Hämolymphvolumen und Kreislaufkinetik bei dem Flußkrebs

Orconectes limosus

von

Hilmar Förstel

1969

Hämolymphvolumen und Kreislaufkinetik bei dem Flußkrebs

Orconectes limosus

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Hilmar Förstel

aus Berlin

1. Referent: Prof. Dr. Urich
2. Referent: Prof. Dr. Kümmel
Tag der mündlichen Prüfung: **2. Juni 1969**
Tag der Promotion: 17. OKT. 1969

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Die vorliegende Arbeit entstand auf Anregung von Herrn Prof. Dr. URICH in der Zeit von September 1965 bis August 1968 am II. Zoologischen Institut der Freien Universität Berlin, dem Hahn-Meitner-Institut für Kernforschung (Sektor C) und der Kernforschungsanlage Jülich GmbH.

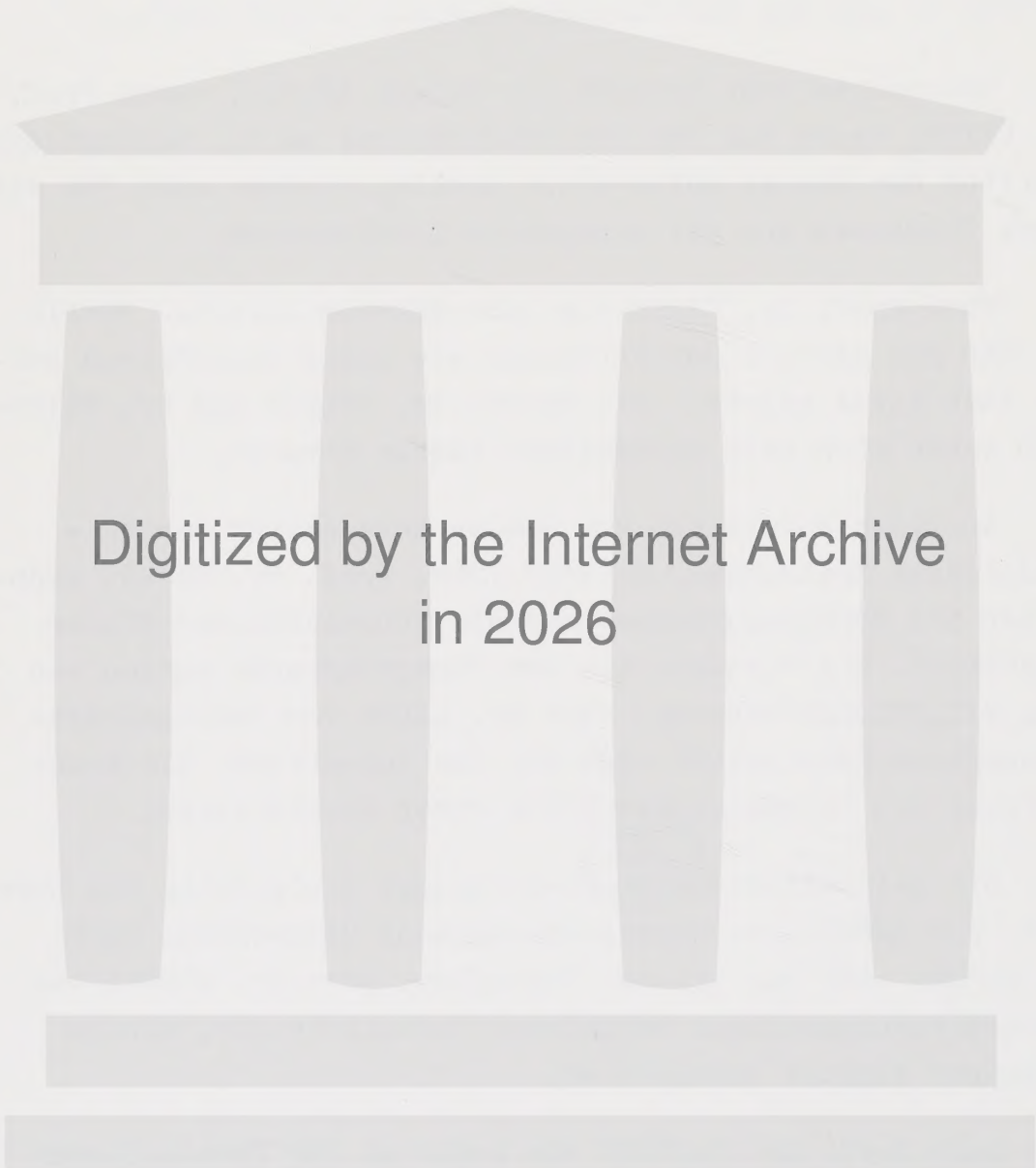
Besonderen Dank schulde ich meinem Lehrer, Herrn Prof. Dr. URICH, nicht nur für den Arbeitsplatz am II. Zoologischen Institut der Freien Universität Berlin, sondern auch für sein reges Interesse und die anregenden Diskussionen.

Herr Prof. Dr. ZIMEN vom Hahn-Meitner-Institut Berlin hat mir die gleiche Unterstützung wie jedem Angehörigen seines Institutes gegeben. Die Herren Dr. MÖLLER und Dr. REICHHOLD haben mich beim apparativen Aufbau beraten.

Am Strahleninstitut der Freien Universität Berlin - Städtisches Krankenhaus Westend (Dir. Prof. Dr. OESER) konnte ich die Röntgenaufnahmen und die Schnellscanner-Bilder anfertigen. Die Versuche mit dem Röntgenapparat wurden von Frau PIELSTICKER betreut. Herr Dr. LIESE vom Heilig-Geist-Krankenhaus Köln beriet mich bei der Auswertung. Wir beobachteten die Injektion mit Hilfe einer Fernsehkette.

Die Szintillationskamera-Aufnahmen ermöglichte mir Herr Prof. ZUM WINKEL vom Czerny-Krankenhaus Heidelberg. Herr Dr. HARBST half mir bei den Versuchen. Herr Dr. LORENZ vom Krebsforschungszentrum Heidelberg gestattete mir, einige Messungen digital auszuwerten.

Herr Prof. Dr. WAGENER vom Institut für Physikalische Chemie der Kernforschungsanlage Jülich GmbH stellte mir technische und finanzielle Mittel seines Institutes zur Verfügung. Ich bin ihm zu besonderem Dank verpflichtet.


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548902_0031

Inhaltsverzeichnis

Seite

1. Einleitung 1
2. Hämolymphvolumen 2
   1. Allgemeines 2
   2. Material und Methoden 3
      1. Versuchstiere 3
      2. Verdünnungsanalyse 4
      3. Verwendete Tracer 6
   3. Ergebnisse 12
      1. Versuche ohne Tracer 12
      2. Tracer-Versuche 14
   4. Diskussion 18
3. Kreislaufkinetik 27
   1. Einleitung 27
      1. Allgemeines 27
      2. Funktionelle Anatomie des Kreislaufes 28
   2. Richtung und Form der Strömungsbahnen 29
      1. Allgemeines 29
      2. Material und Methoden 29
      3. Ergebnisse 33
         1. Gefrierschnitte 33
         2. Röntgenkontrastverfahren 34
         3. Beobacht. der Hämolympzellen an Jungtieren 36
      4. Diskussion 43
   3. Durchmischungszeit 45
      1. Allgemeines 45
      2. Material und Methoden 46
      3. Ergebnisse 52
         1. Abschätzung des Herzminutenvolumens . . . 52
         2. Verdünnungsanalyse 54
         3. Durchflußmessungen m. digitalem Ratemeter. 58
         4. Schnellscanner 61
         5. Szintillationskamera (Versuche am Hummer). 63
      4. Diskussion 66
4. Schlußbetrachtung 70
5. Zusammenfassung 72
6. Literaturverzeichnis 73

1. Einleitung

Im Rahmen stoffwechselphysiologischer Untersuchungen an dem Flußkrebs Orconectes limosus werden am hiesigen Institut in-vivo-Versuche mit radioaktiv-markierten Substanzen durchgeführt. Die Auswertung solcher Experimente erfordert die Kenntnis der Verteilung injizierter Stoffe in den Körperflüssigkeiten des Tieres. Hierzu müssen Blutvolumen und Durchmischungszeit des Kreislaufes bekannt sein. Besonders methodische Unterschiede veranlaßten eine Aufteilung nach diesen beiden Fragestellungen. Zuerst mußten geeignete Tracer gefunden werden. Mit ihnen ist die Gliederung und das Volumen des Flüssigkeitsraumes außerhalb der Zellen bestimmt worden. Da dieser einheitlich ist, nenne ich ihn im folgenden Hämolymph- oder auch bei vergleichenden Betrachtungen Blutraum, bzw. Hämocoel. Für die Beobachtungen der Strömung und der Umlaufzeit mußten auch Techniken anderer Forschungszweige, besonders der Medizin, für das schwer handhabbare Objekt erprobt werden.

Der Kreislauf des Flußkrebses wird im Gegensatz zum geschlossenen Blutgefäßsystem der Wirbeltiere, Cephalopoden, Nemertinen und Anneliden dem offenen Zirkulationstyp zugerechnet. Dieser ist negativ dadurch gekennzeichnet, daß die Körperflüssigkeit nur auf einem Teil ihres Weges innerhalb geschlossener Röhren mit eigener Wandung (Gefäße) umgewälzt wird. Der übrige Weg wird in Hohlräumen des Gewebes (Lakunen) zurückgelegt. Diese Art der Zirkulation wird zwar bei allen Arthropoden, Tunikaten und einem Teil der Mollusken gefunden, ist also im Tierreich weit verbreitet, wird aber noch nicht voll verstanden. Offene Kreisläufe werden mitunter noch als träge und unregelmäßig angesehen. Diese Arbeit wird Hinweise liefern, daß dies beim Flußkrebs nicht zutreffen muß.

2. H ä m o l y m p h v o l u m e n

2.1 A l l g e m e i n e s

Diese Untersuchung der Körperflüssigkeiten eines "wirbellosen" Tieres orientierte sich an den zahlreichen Messungen bei Wirbeltieren, besonders dem Menschen. Hier interessierte nur der Raum außerhalb der Zellen. Die Aufnahme in die Zellflüssigkeiten hängt von den Transporteigenschaften der Zellmembranen ab. Als Vorbild diente der Abschluß der interstitiellen Flüssigkeit vom Blut bei den Wirbeltieren. Kleinere Flüssigkeitsräume, wie die Cerebrospinalflüssigkeit, wurden nicht in die Versuche und Betrachtungen einbezogen. Die Zellen in der Körperflüssigkeit des Flußkrebses machen nicht mehr als 1 % des Hämolymphvolumens aus. Mit den bei Säugetieren gefundenen Viskositätseffekten (FÅHRAEUS [1932], WHITHORE [1967] u. a.) wurde nicht gerechnet. Beobachtet wurde mit einer Ausnahme bei Jungtieren nur die dem Plasma der Wirbeltiere analoge Flüssigkeit.

Rein mechanischen Methoden ("Ausbluten" und Auswaschen des Hämolymphproteins) wird das schonende Verfahren, die Beobachtung einer injizierten Substanz, gegenübergestellt. Mit dieser Verdünnungsanalyse können bei Wirbeltieren Blut und interstitielle Flüssigkeit nebeneinander gemessen werden. Nur niedermolekulare Tracer passieren ungehindert die Kapillarwände. Obwohl eine Unterteilung des extrazellulären Raumes durch selektiv permeable Barrieren im offenen Kreislauf nicht erwartet wird - Diaphragmen werden von der gleichen Flüssigkeit umströmt - wurde mit Substanzen unterschiedlichen Molekulargewichts und proteingebundenen Tracern auf eine solche Gliederung geprüft. Das Hämolymphvolumen wurde mit verschiedenen Substanzen bestimmt und aus der Art der Verteilung auf die Eignung der Tracer dafür geschlossen.

2.2 Material und Methoden

2.2.1 Versuchstiere

Der Flußkrebs Orconectes limosus RAFINESQUE (= Cambarus affinis SAY) wurde von gewerbsmäßigen Fängern aus der Berliner Havel bezogen. Bis höchstens zwei Monate nach Entnahme aus dem Freilandkäfig wurde er für Versuche benutzt. Die Tiere wurden in fließendem Leitungswasser von 10 - 15 ^{o} C gehalten und mit Rinderherz oder gekochten Kartoffeln gefüttert. Die Krebse hatten 19 $\pm$ 5,8 g Masse. In dieser Arbeit wird die Streuung durch die Standardabweichung charakterisiert. Die Massen der Versuchstiere waren mit $P < 0,025$ normalverteilt. Der für diese Feststellung verwendete χ^2-Test wurde nach BELITZ [1960] ausgeführt und, wie die statistischen Prüfverfahren dieser Untersuchung, mit den Tabellen von WETZEL [1965] bewertet. Unterschiede im Hämolymphvolumen zwischen Männchen und Weibchen wurden nicht gefunden. Die Angaben gelten für beide Geschlechter. Das Ovar nahm vor der Eiablage nur 5 $\pm$ 1,4 % der Körpermasse ein. Jahresperiodische Änderungen wurden nicht verfolgt. Es wurde nur an "Zwischenhäutungstieren" von Oktober bis Anfang Mai gemessen. Der Versuchsmonat wird angegeben.

Als Bezugsbasis diente die Körpermasse. Sie war mit $\pm$ 0,5 % innerhalb einer Woche reproduzierbar und linear mit dem Volumen korreliert ($P < 0,01$): Masse/Volumen = (1,11 $\pm$ 0,022) g/cm^3. Zwischen der Körpermasse und den Anteilen der Organe wurdenkeine Korrelationen gefunden. Adulte verschiedener Masse können danach zumindest in diesen Proportionen verglichen werden. 12 von 14 äußeren Abmessungen waren zwar mit $P < 0,01$ mit der Carapaxlänge linear korreliert, die Ausgleichsgeraden gingen jedoch nicht durch den Nullpunkt. Das findet auch ANDREWS [1967] für die Beziehung der Carapax- zur Gesamtkörperlänge. Für F- und t-Test sowie lineare Regression und Ausgleichsgeraden wurden die Formeln von DOERFFEL [1962] benutzt.

2.2.2 Verdünnungsanalyse

Dieselbe, nicht notwendigerweise genau bekannte, Menge an Tracer wurde sowohl in dem zu untersuchenden (V_T) als auch in einem bekannten Volumen (V_{St} = 10 bzw. 5 ml) verdünnt. Für alle Schritte, wie Injektion, Entnahme der Hämolymphe oder Nachweis des Tracers, wurden die gleichen Lösungen und Dosiergeräte benutzt. Alle Meß-, Null- und Standardproben enthielten die gleichen Mengen organischen Materials und auch den Tracer in Konzentrationen gleicher Größenordnung. So konnte direkt aus dem Vergleich der Tracer- (C_T) mit der Standard-Konzentration (C_{St}) nach

$$V_T = (C_{St} / C_T) \cdot V_{St}$$

das gesuchte Volumen berechnet werden. V_T wird als Verdünnungs- oder Tracer-Volumen bzw. -Raum bezeichnet.

In das Tier wurde der Tracer in physiologischer Lösung nach HARREVELD [1936] direkt ins Herz bzw. Perikard durch die Carapax-Pleon-Intersegmentalhaut gegeben, also in den zentralen Strom der Hämolymphe. Die Treffsicherheit wurde in Röntgenkontrastaufnahmen bestätigt. Zur Injektion diente entweder eine 0,5 ml Tuberkulin-Spritze mit Feinvortrieb oder eine 50 µl Hamilton-Spritze. Die Eingabe von 0,05 bis 0,1 ml stellt nur 1 - 2 % der Hämolymphe eines 20 g Tieres dar. Nach SCHWARTZKOPFF [1953a] wurde mehrfach Hämolymphe mit Glaspipetten aus den Beingelenken entnommen. Für die letzte Probe konnte eine größere Menge aus der ventralen Lakune im Pleon neben dem Bauchmark gewonnen werden. Um die Hämolymphe nicht durch eindringendes Wasser zu verdünnen, wurde jede Entnahmestelle nur einmal benutzt. Dort war ohnehin nur eine begrenzte Hämolymphmenge zu erhalten, auch wenn die Flüssigkeit angesogen wurde. Hämolymphe wurde entweder innerhalb von Minuten bis wenigen Stunden ("Kurzzeit-Versuche") oder im Verlaufe eines bis weniger Tage ("Langzeit-Versuche") mehrmals entnommen, und die Tracerkonzentration bestimmt. Aus der Fehlerrechnung ergab sich allgemein eine Reproduzierbarkeit der Methode von ± 5 %.

Nach der Verteilung in der Hämolymphe des frei beweglichen Tieres erreicht der Tracer in der Regel nicht eine konstante Konzentration. Die Abbau- und Ausscheidungsvorgänge selbst zu verfolgen, führt von der Bestimmung des Hämolymphvolumens weg zu einer Fülle von immer neuen Detailfragen. So wurde der Verlust durch Extrapolation korrigiert und aus dem Vergleich der Ergebnisse mit verschiedenen Substanzen auf das Hämolymphvolumen geschlossen. Für die Abnahme im Hämocoel konnte eine Exponentialfunktion angenommen werden. Als Maß des Verlustes wird die Umsatzzeit ($t_{1/e}$) des Verdünnungsraumes als formale Größe berechnet:

$C_t = C_o \exp(-kt)$ $\quad$ C_t, C_o: Konzentration zur Zeit t, t = 0 (Zeitpunkt der Injektion)

$t_{1/e} = 1/k$

Verläßt ein Tracer das zentrale Verdünnungsvolumen auf mehr als einem Wege, so kann die zeitliche Konzentrationsabnahme durch eine Summe exponentieller Glieder beschrieben werden. Die hier auftretenden praktischen Schwierigkeiten beschreibt RIGGS [1963] ausführlich. Begrenzte Probenzahl und Reproduzierbarkeit ließen nicht mehr als die Errechnung von zwei Verdünnungsvolumina zu. Bei der Auswertung wurde zwischen drei Fällen ausgewählt: Entweder erreicht der Tracer eine konstante Konzentration, oder diese nimmt exponentiell ab, oder aus der zeitlichen Abnahme muß auf mindestens zwei Verdünnungsvolumina geschlossen werden. Für den zweiten Ansatz wurde die Ausgleichsgerade mit semilogarithmischer Transformation der Konzentrationswerte berechnet. Zeit und Logarithmus der Konzentration des Tracers waren mit $P < 0{,}05$ korreliert. Im dritten Fall wurde ebenso verfahren, nur daß die Auswahl der Meßpunkte für die Berechnung der langzeitigen Abnahme graphisch erfolgte. Mit subjektiven Einflüssen dabei muß gerechnet werden.

Bei der Beurteilung der errechneten Räume ist zu beachten, daß es "den" Tracer der Hämolymphe nicht geben kann.

Sie ist ja keine einheitliche Substanz. Rasche Umsetzungen oder Ablagerungen des Tracers können aufgrund der geringen Probenanzahl nicht ausgeschlossen werden. Hinzu kommt, daß eine gleichmäßige Verteilung der Markierungssubstanz in den Verdünnungsvolumina vorausgesetzt wird. So ist das errechnete Volumen eine formale Größe. In der Stichprobe aus dem Hämocoel war das Hydratwasser des Hämolymphproteins enthalten. Da nach ANDREWS [1967] die Dichte der Hämolymphe mit 1,0224 ± 0,0004 g/cm^3 von 1,00 nicht wesentlich verschieden ist, wurden Volumen und Masse zahlenmäßig gleichgesetzt und das Hämolymphvolumen in Prozent der Körpermasse angegeben. So wurde auch für Vertreter anderer Arten in den vergleichenden Betrachtungen verfahren.

2.2.3 Verwendete Tracer

Die Anwendung von Vertretern verschiedener Substanzklassen mit unterschiedlichem Molekulargewicht und Bindung an Protein vermindert den Einfluß systematischer Fehler. Die große Zahl der möglichen Tracer aber wird durch vier Anforderungen eingeengt. Erstens darf die Substanz nicht giftig sein. Toxische Wirkungen zeigen einen veränderten physiologischen Zustand an. Man wird zweitens keine Stoffe verwenden, die nur mit aufwendigen Techniken nachweisbar sind. Drittens muß der Tracer in der gemessenen Eigenschaft einheitlich sein. Nach Injektion eines Gemisches verschiedener Zucker und deren Polymeren unterschiedlichen Molekulargewichts wäre die Verteilung sicherlich schwer deutbar. Dagegen stört nach dem Versuchsansatz des inneren Standards die Natriumchlorid-Verunreinigung eines Farbstoffes den spektralphotometrischen Nachweis nicht. Viertens sollten die Bindung an organismische Substanzen, besonders Proteine, und das Verhalten im Tier beachtet werden.

N a t r i u m r h o d a n i d (Merck) als niedermolekularer Tracer, von dem nur das Rhodanid-Ion nachgewiesen wurde, ist von CRANDALL und ANDERSON [1934] als Markierungssubstanz der gesamten extrazellulären Flüssigkeit beim Menschen eingeführt und von FLEMISTER [1958] sowie PROSSER und WEINSTEIN [1949] für die Crustaceen übernommen worden. Es ist bei Orconectes limosus giftig (LD_{50} : 32 mg/20 g bei 12 - 14 °C, Probitverfahren nach WEBER [1967], Tod durch Überprüfen der Reflexe nach ZUCKERKANDL [1960] festgestellt). Sofort nach der Injektion höherer Dosen zuckten verschiedene Teile des Körpers. Von den untersuchten Anionen zeigt es die stärkste Wirkung auf die abdominalen Ganglien bei Cambarus-Arten (PROSSER [1943]); der Herzschlag wird gestört (PROSSER und WEINSTEIN [1949]). Obwohl häufig in Organismen vorkommend (LANG [1933]), konnte es nicht getrennt neben dem störenden Chlorid-Ion im Flußkrebs nachgewiesen werden. Nach Injektion von 0,1 ml 6 % Lösung hätten geringe Mengen an nativem Rhodanid nicht gestört. Zum Nachweis nach FLEMISTER [1958] wurden 10 bis 50 µl Hämolymphe mit 1 ml demineralisiertem Wasser versetzt. Das mit 0,5 ml Trichloressigsäure gefällte Protein wurde abzentrifugiert. Die in 1 ml des Überstandes durch Zusatz von 100 µl 5 % Eisen-III-nitrat-Lösung in 5 % Salpetersäure entwickelte Farbe wurde bei 455 nm mit $\leq \pm$ 1,1 % Reproduzierbarkeit gemessen.

Das P e r t e c h n e t a t - Ion wurde in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe des Hahn-Meitner-Institutes für Kernforschung Berlin nach REICHHOLD und WOLF [1967] hergestellt. Im Reaktor wurde Molybdäntrioxid bestrahlt. Das entstehende Molybdän-99 zerfällt mit 67 Stunden Halbwertszeit zu Technetium-99 m. (Halbwertszeit: 6 h; Gammastrahlung: 90 % 140 keV, 10 % 142 keV). Innerhalb einer Woche kann man mehrfach das Tochternuklid nach STANG und RICHARDS [1964] mit genügender Ausbeute abtrennen. Dazu wurde die aktivierte Substanz in 5 N Natronlauge gelöst und das Tc-99 m in Methylisobutylketon ausgeschüttelt. Nach dem Eindampfen wurde

die Aktivität mit 1 N Salzsäure aufgenommen, Molybdänspuren an Aluminiumoxid absorbiert und der Durchlauf eingedampft. Das in Lösung nach HARREVELD [1936] aufgenommene Präparat enthielt 10 - 20 mC bei der ersten Präparation. 0,05 ml davon mit 0,1 bis 1 mC erhielt das Versuchstier. Nach dem Abklingen der Technetium-99m-Aktivität bleiben weniger als 2 % von anderen Nukliden übrig. Vor jeder Probe wurde ein Standard im Bohrlochkristall mitgemessen (Meßkopf: Nuclear Enterprises Edinburg, Meßplatz: ESONE - Zählplatz aus der Fertigung des Hahn-Meitner-Instituts Berlin). Die Reproduzierbarkeit lag um ± 2 %. Die Verwendung hatte kernmeßtechnische Gründe, auf die in Teil 3 eingegangen wird.

Doppelt äthanolrekristallisiertes I n u l i n (Merck), ein Polyfructosan mit einem Molekulargewicht von 5600 bis 7000 (PHELPS [1965]), ist eine bewährte Substanz zur Markierung der extrazellulären Flüssigkeit. Nach YOUNG und RAISZ [1952] ist die Zusammensetzung aus zwei verschieden alkalistabilen Formen für die Größe des Verteilungsraumes belanglos. Die beiden Inulin-Formen unterscheiden sich in ihrer Molekülgestalt und -größe. HANDELSMANN und DRABKIN [1954] finden aber eine Fraktionierung beim Übergang in den Urin. Hier interessiert nur die Verteilung im Hämolymphraum. Zu 50 µl Hämolymphe wurden 1 ml Wasser und 1 ml 14 % Perchlorsäure gegeben und das Eiweiß abzentrifugiert. In Anlehnung an HANDELSMANN und DRABKIN [1954] wurde 1 ml Überstand im Eisbad mit 2 ml 0,2 % Anthron-Schwefelsäure versetzt, die Farbe im 60 °C warmen Wasserbad 10 Minuten lang entwickelt und bei 620 nm gemessen. Die 6 % Dispersion, von der 0,1 ml injiziert wurde, wurde vor der Verwendung bis zur Klärung der Flüssigkeit erwärmt.

Beim T r i t i u m - m e t h o x y - I n u l i n (New England Nuclear, Dreieichenhain) ist in der an einer Ätherbindung sitzenden, substituierten Methylgruppe ein Wasserstoff- durch ein Tritiumatom ersetzt worden. Offenbar ist durch

die statistisch verteilte Änderung der nativen Substanz ein Teil des Präparates in seinen lipophilen Eigenschaften verändert worden. Nur 35 ± 5 % der Aktivität wurde durch Äthanol mit inertem Inulin mitgefällt; auf Kieselgel G fanden sich 14 % in den Di- und Monosaccharid-Fraktionen (Kieselgel G in 0,02 M Na-acetat hergestellt, Laufmittel 35/65 Essigsäuremethylester/Propanol + Wasser (2 + 1), Laufstrecke 15 cm, Laufzeit 1,5 Stunden). Auf Sephadex G 75 aber zeigten sich keine niedermolekularen Anteile (Laufmittel: chloroformgesättigte 0,2 M NaCl, K_d = 0,64). 0,05 bis 0,1 ml der Probe wurden direkt in die mit 0,1 ml 4 N Natronlauge alkalisch gemachte (siehe KÖNIGER und SÜSS [1968]) Szintillatorlösung gebracht. Als Zähllösung wurden in 100 ml Dioxan (Merck, p. a.) 8 g Naphthalin (Merck, p. a.) 300 mg (Merck) und 14 mg POPOP (Merck) gelöst und darin 5 g Aerosil (Degussa) zu einem thixotropen Gel suspendiert. Zur Quenchkorrektur im Szintillationsspektrometer (Packard) wurden interner und externer Standard sowie die Kanalverhältnismethode benutzt. Nach SCHWERDTEL [1966] reicht die Kanalverhältnismethode bei Tritium nicht aus. Tritium konnte ebenso wie C-14 und J-131 mit ± 2 % nachgewiesen werden. Die 0,05 ml Injektionslösung pro Tier enthielten etwa 10 µC Tritium-Aktivität.

Das C - 14 - c a r b o x y - I n u l i n (New England Nuclear, Dreieichenhain) war vollständig mit inaktivem Inulin mitfällbar. 5 - 10 µC in 0,05 ml Saline wurden in ein Tier gegeben und wie Tritium-methoxy-Inulin nachgewiesen. Beide radioaktiven Substanzen sollen sich wie der native Tracer verhalten.

Der Diazofarbstoff E v a n s B l a u (= T 1824) (Merck) wird fest an Protein gebunden. Seine noch größere Affinität zu Polysacchariden wie Dialysierhüllen oder Sephadex erschwerte die Präparation einer Protein-Farbstoff-

Verbindung. Sie fiel in der Hämolymphe des Tieres aus. Mit einer LD_{50} von 2 mg/20 g ist die Substanz so giftig, daß nichttoxische Dosen für den Nachweis nach CROOKE und MORRIS [1942] am Rande sinnvoller Meßgenauigkeit lagen. Injiziert wurden 4 bis 0,5 mg/Tier in 0,1 ml physiologischer Lösung. 1 Teil Hämolymphe wurde mit 7 Teilen konzentrierter Salzsäure/15 % äthanolischer Phosphorwolframsäure (10/60) 10 Minuten lang geschüttelt und der Überstand bei 620 nm photometriert.

J - 131 - P r o t e i n wurde nach WASER [1961] dargestellt. Natriumjodid-131-Lösung nicht bekannter Aktivität, mit Kaliumjodid als Träger versetzt, wurde mit 0,1 N Schwefelsäure und 4 % Wasserstoffperoxid eine Stunde lang stehen gelassen. Dann wurde sie mit 4 Teilen Hämolymphe und 1 Teil 7 % Natriumbicarbonat vermischt und nach einem Tag nichtgebundenes Jod durch Dialyse gegen HARREVELD-Lösung entfernt. Die Tracerlösung wurde durch Einfrieren im Dialyseschlauch eingeengt und neben Tritium im Szintillationsspektrometer gemessen.

Ein T e c h n e t i u m - P r o t e i n - K o m p l e x , wie ihn KAZEM und MAIER-BORST [1966] mit Albumin herstellten, wurde in gleicher Weise mit dem Hämolymphprotein des Flußkrebses dargestellt. Nach Fällung mit Trichloressigsäure verblieben aber noch 7 % im Überstand. 0,05 ml mit rund 0,1 mC wurden als Tracer injiziert.

B l u e D e x t r a n 2000 (Pharmacia, Uppsala), ein mit einer Farbstoffgruppe gekoppeltes Dextran vom Molekulargewicht $2 \cdot 10^6$, sollte nach KIRSCHNER und WAGNER [1965] nicht ausgeschieden werden können. Das Tier wurde zwar bei Dosen über 20 mg/20 g nach 20 Minuten schwach, erholte sich aber wieder. Im Versuch wurden 2 bzw. 1 mg/20 g injiziert. Die Substanz war nicht einheitlich. 53 mg Protein in 1 ml Hämolymphe banden 22 $\pm$ 3 mg Dextran, aber eine Farbstoffmenge,

die mehr als 27 mg Blue Dextran entsprach (Ammoniumsulfat-Fällung. Nachweise wurden selbst gesucht. Als blauer Farbstoff mit einem Absorptionsmaximum um 620 nm wurde Blue Dextran in Verfahren 1 direkt im Blut gemessen, nachdem durch Zusatz von 1 Teil 0,5 N Natronlauge die natürliche Blaufärbung des Blutes in eine fleischfarbene umgewandelt worden war. Die Proben wurden trüb und waren nur mit ± 5 % zu reproduzieren. Messungen bei 500 und 620 nm an der gleichen Probe brachten keine größere Genauigkeit (Verfahren 2). Die Trübung, alterndes Magnesiumhydroxid-Gel, wurde durch Ionenaustauscher schwach sauer (Merck) vor dem Laugenzusatz beseitigt; bei 600 und 550 nm wurde die Blaufärbung photometrisch bestimmt. Auch dieses Verfahren 3 war nur mit ± 3 % reproduzierbar; ebenso die vierte Methode. Hier wurde das Dextran aus nur 100 /ul Hämolymphe gemessen. Es wurden 0,5 ml Wasser und dann 100 /ul 5 % Magnesiumchlorid ($MgCl_2$. 6 H_2O) hinzugefügt.Mit 100 /ul 2 N Natronlauge wurde das Hydroxid gefällt und erst in 2 N, dann 0,2 N Natronlauge gewaschen. Die Fällung löste sich in 200 /ul konzentrierter Perchlorsäure auf. Nach 10 Minuten wurde das Eiweiß durch Zusatz von 1 ml Wasser ausgefällt. Im Überstand wurde Dextran wie Inulin nachgewiesen, nur daß die Farbe bei 100 ^{o} C 4 Minuten lang entwickelt wurde. Verfahren 1 und 2 sowie 3 und 4 wurden an den gleichen Proben angewendet. Für den Blue-Dextran-Nachweis konnte nur eine Probe vom Versuchstier erhalten werden. Unter der Voraussetzung eines gleichen Anteils des Hämolymphvolumens an der Körpermasse wurde die gleiche Menge/Masseneinheit injiziert (0,1 ml/20 g). Die Extinktionen der zu verschiedenen Zeiten entnommenen Proben konnten so direkt miteinander verglichen werden.

P r o t e i n wurde nach LOWRY und Mitarbeitern [1951] mit Rinderserumalbumin als Standard bestimmt.

2.3 Ergebnisse

Die Ergebnisse werden in Tabelle 1 (S. 13) wiedergegeben. Weitere Einzelheiten, wie besondere Versuchsbedingungen, Beobachtungen, Umsatzzeit des Tracers und eine Diskussion der Messergebnisse stehen im Text. Der Vergleich aller Verdünnungsmessungen, die nach zunehmender Kompliziertheit der Verteilung angeordnet wurden, findet sich erst in der Diskussion (S. 18). Dort wird auch begründet, welcher Wert als Hämolymphvolumen angesehen wird.

2.3.1 Versuche ohne Tracer

Die im April 1967 aus dem ventralen Pleonsinus gewonnene Hämolymphe nahm 8 ± 2,5 % der Körpermasse ein (Tab. 1, Versuchsreihe 1). Man konnte sehen, daß selbst in der angestochenen Lakune noch Flüssigkeit verblieb.

Ebenso unbefriedigend verlief der Versuch, die Gesamtmenge von Protein und Aminosäuren der Hämolymphe an einem Tier zu messen. Leider wurden letztere nicht vor der Messung abgetrennt. Die Organe sind viermal jeweils 5 Minuten lang auf einem Gazenetz liegend in bewegter HARREVELD-Lösung ausgewaschen worden. Das "Protein-Volumen" von 33 % der Körpermasse (Tab. 1, Versuchsreihe 2) muß zu hoch sein, Gewebe wurden zerstört. So ging aus Mitteldarmdrüse und Epidermis Farbe in die Waschlösung über. 7 % der Körpermasse nahm der für die Extremitäten errechnete Proteinraum ein. WARNATSCH [1968] bestimmte auswaschbares Kupfer und ermittelte daraus eine Hämolymphmenge von 20 % im Flußkrebs, ohne die Extremitäten einzurechnen. Der Proteinraum der Gliedmaßen in eigener Messung könnte ein zuverlässiger Wert sein. Die Beine enthalten nur wenig Gewebe. So ergibt sich ein Wert in der Größenordnung des Inulin-Verteilungsraumes.

Tabelle 1: Ausblutbare Hämolymphmenge, aus Protein und Aminosäuregehalt errechnetes Hämolymphvolumen und Verdünnungsräume verschiedener Tracer beim Flußkrebs.

K = Kurzzeitversuch I, II: größerer und kleinerer Verdünnungsraum
L = Langzeitversuch

Versuchsreihe	Methode	Versuchsdauer	Verdünnungsraum, % Körpermasse	n	Versuchsmonat	Dosis/Tier
1	ausblutbar	-	8 ± 2,5	8	IV 67	--
2	Protein und Aminosäure der Hämol.	-	33	1	IV 66	--
3	Blue Dextran 2000	K	Verfahren 1) 24 ± 4,1 2) 27 ± 5,8	9 13	IV 67	2 mg
4		L	3) 27 ± 4,9 4) 26 ± 3,9	21 23	IV 67	1 mg
5	Inulin	K	24 ± 2,3	12	VIII 68	6 mg
6		L	25 ± 2,2	9	IV 65	6 mg
7	T-methoxy-Inulin	L	25 ± 1,3	3	II 68	10 µC
8		K	27 ± 4,0	9	II 68	10 µC
9	T-m-Inulin J-131-Protein	K	27 ± 0,8 27 ± 1,2	5	III 68	10 µC nicht bek.
10	C-14-carboxy Inulin	L	28 ± 3,4	4	III 68	5-10 µC
11	Evans Blau	L	59 ± 40	8	IV 67	4-0,5 mg
12	Rhodanid	L	I 70 ± 15 II 43 ± 8,5	12	III 66	6 mg
13		K	II 28 ± 3,0	5	III 66	6 mg
14	Pertechnetat	L	I 63 ± 4,7 II 44 ± 3,4	5	IV 68	0,1-1 mC
15		K	I 95 ± 20 II 33 ± 4	4	IV 68	0,1-1 mC
16	Technetium-Protein-Komplex	K	38 ± 6,8	3	IV 68	0,1 mC

2.3.2 T r a c e r - V e r s u c h e

Blue Dextran 2000

Innerhalb des untersuchten Zeitraumes war keine Ausscheidung zu beobachten. Für Proben von 5 Minuten bis 48 Stunden nach Injektion wurde weder eine Korrelation der Konzentration mit der Zeit noch mit der Körpermasse gefunden. Schon bei Entnahme der ersten Probe mußte die Substanz vollständig verteilt sein. Noch nach 5 Tagen war das Blut der Versuchstiere gefärbt. Nur bei 3 von 6 Tieren war eine geringe Ablagerung im Coelomsäckchen der Antennendrüse erkennbar. Alle vier Verfahren lieferten den gleichen Mittelwert (t-Test, $P < 0{,}05$, Tab. 1, Versuchsreihen 3 - 4). Die Streuungen haben ihren Ursprung wohl vor allem in der verbesserungswürdigen Meßmethodik.

Inulin

Für den Inulin-Raum konnte im August 1968 (Tab. 1, Versuchsreihe 5) eine strenge lineare Korrelation mit der Körpermasse gefunden werden ($r = 0{,}98$). Der Ordinatenabschnitt ist nicht signifikant vom Ursprung des Koordinatensystems verschieden. Der Anteil des Inulin-Raumes an der Körpermasse bei den untersuchten adulten Tieren ist konstant. Langzeit-Beobachtungen bei 15 $\pm$ 1 ^{o} C Wassertemperatur ergaben eine Umsatzzeit von 20 $\pm$ 4,3 Stunden an 9 Tieren (Tab. 1, Versuchsreihe 6).

Tritium-methoxy-Inulin

Zwar wurde bei 3 Tieren mit diesem Tracer eine fast doppelt so große Umsatzzeit (41 $\pm$ 3,6 Stunden) wie mit inaktivem Inulin gefunden. Gemessen aber wurde bei einer Wassertemperatur um 10 ^{o} C im Februar 1968, in der Zeit der Winterruhe des Flußkrebses. Es ergaben sich außer den Differenzen bei der Chromatographie und der Mitfällung keine

weiteren Hinweise auf gegenüber dem inaktiven Inulin abweichendes Verhalten. Die Eignung des Inulins wurde mit der tritium-markierten Substanz verfolgt. (Tab. 1, Versuchsreihe 7)

Die Ausscheidung wurde als Zunahme der Aktivität in 200 ml Leitungswasser, in dem sich die Tiere nach der Injektion aufhielten, bestimmt. In Kontrollversuchen wurde die gleiche Aktivität sofort ins Haltungsmedium gegeben. Nur weniger als 2 % des Tritiums konnten danach im Tier nachgewiesen werden. Die aus der Konzentrationsabhängigkeit in der Hämolymphe berechnete Umsatzzeit von 52 ± 12 Stunden (n = 3, 10 - 12 ° C) ist gleich der aus der Zunahme im Umgebungswasser berechneten von 51 ± 9 Stunden. Würde die Tritium-Markierung des Inulins im Organismus abgelagert oder abgebaut, so müßten sich unterschiedliche Umsatzzeiten ergeben. Der Zeitverlauf der Zunahme im Haltungsmedium ist gegenüber der Abnahme in der Hämolymphe um 10 ± 4 Stunden verschoben. Dies könnte als Verweilzeit in der Antennendrüse betrachtet werden.

Der Verlust des Tracers im Tier ist auch dann wenig wahrscheinlich, wenn die Reproduzierbarkeit des Verteilungsraumes von der Menge eingesetzter Markierungssubstanz unabhängig ist. Um dies zu prüfen, wurde innerhalb weniger Stunden zweimal die gleiche Menge an Tracerlösung injiziert. Nur wenn die Ablagerung der Tracerkonzentration proportional ist, könnte man bei störend großen Verlusten aus der Hämolymphe mit einfacher und doppelter Tracermenge das gleiche Ergebnis erwarten. Für 6 Tiere wurde die Reproduzierbarkeit samt der systematischen Fehler und Streuungen von Injektion, Probenentnahme, -bereitung und -zählung zu ± 5,4 % bestimmt, also in der Größe der aus Fehlerabschätzungen erwarteten ± 5 %. Dies liegt im Rahmen von Erfahrungen mit verschiedenen Methoden (REEVE [1948]). Die individuellen Streuungen innerhalb einer einheitlichen Versuchspopulation von Orconectes limosus sind im Gegensatz zu den Ergebnissen von PROSSER und WEINSTEIN [1949] bei Cambarus virilis gering.

Eine Gliederung des extrazellulären Raumes durch nach Molekülgröße differenzierende Barrieren ist zwar schon von PROSSER und WEINSTEIN [1949] abgelehnt worden. Sie finden für Rhodanid und Evans Blau gleichgroße Verteilungsräume. Nach eigenen Ergebnissen sind beide Tracer nicht besonders geeignet. Die Nachuntersuchung mit J-131-Protein und Tritium-methoxy-Inulin ergab, daß sich diese Substanzen von unterschiedlichem Molekulargewicht in gleich großen Verdünnungsräumen verteilen. Die J-131-Protein-Aktivität blieb nicht konstant. (Tab. 1, Versuchsreihe 9).

C-14-carboxy-Inulin

Im März 1968 wurde an 4 Tieren die Umsatzzeit zu 28 ± 5,4 Stunden bestimmt (Tab. 1, Versuchsreihe 10). Bei Ausscheidungsversuchen ergaben sich Hinweise auf einen Abbau im Haltungswasser. Ihnen wurde aber nicht weiter nachgegangen. An einem Tier wurde nach der ersten Injektion ein Hämolymphraum von 20,8 % und nach einer weiteren von 22 % der Körpermasse extrapoliert.

Evans Blau

Die Ergebnisse waren nur schlecht reproduzierbar. An zweimal 4 Tieren nach Injektion von 4 bzw. 0,5 mg/Tier wurde ein Verdünnungsraum von 59 ± 40 % der Körpermasse (Umsatzzeit: 20 bis 300 Stunden) errechnet (Tab. 1, Versuchsreihe 11). Die Hauptmenge des Tracers verläßt die Hämolymphe schon in den ersten 10 Minuten. Ob dies aus der Ablagerung in den Nephrocyten der Kiemen und dem Coelomsäckchen der Antennendrüse resultiert, wurde nicht untersucht. KIRSCHNER und WAGNER [1965] hielten die Markierung des Coelomsäckchens für eine Kennzeichnung des Filtrationsortes. Dem widerspricht, daß auch der isolierte Coelomsack aus einer Lösung des Protein-Farbstoff-Komplexes eine blaue Färbung annimmt (8 Stunden bei 20 ^{o} C inkubiert). Die Hämolymphzellen nahmen keinen Farbstoff auf.

Rhodanid

Auch mit Rhodanid konnten keine befriedigenden Ergebnisse erhalten werden, obwohl es schon von FLEMISTER [1958] und von PROSSER und WEINSTEIN [1949] bei Dekapoden verwendet wurde. Entgegen den bisherigen Untersuchungen wurden zwei Verteilungsräume gefunden. Der große Verdünnungsraum (Tab. 1, Versuchsreihe 12, I) hat eine Umsatzzeit von 109 ± 36 Stunden, die durch die Abgabe des Rhodanids an das Umgebungswasser erklärt werden könnte (110 ± 17 Stunden). Die Größe des kleineren Rhodanidraumes ist von der zeitlichen Lage der Meßpunkte abhängig. In Langzeitversuchen findet man einen Raum von 43 ± 8,5 % mit einer Umsatzzeit von 9 ± 3,3 Stunden (Tab. 1, Versuchsreihe 12, II), bei Messung innerhalb einer Stunde einen kleineren Raum von 28 ± 3 % mit einer Umsatzzeit von 7 ± 2,1 Stunden (Tab. 1, Versuchsreihe 13). Die Abgabe aus der Hämolymphe ist offenbar ein komplexer Vorgang. In Bestätigung von FLEMISTER [1958] wurde festgestellt, daß die Tiere Rhodanid langsam aus dem Haltungsmedium aufnehmen können. Die oben genannten Umsatzzeiten sind also zu groß.

Pertechnetat

Auch für dieses Ion muß die Verteilung in mindestens zwei Räume angenommen werden. Eine weitere Parallele zum Rhodanid ist die Abhängigkeit der Größe des kleineren Verteilungsraumes von der zeitlichen Lage der Meßpunkte. Tabelle 1, Versuchsreihe 14 gibt den Langzeitversuch wieder. In Kurzzeitversuchen wurde der größere Raum in 11 ± 2, der kleinere in 1 ± 0,3 Stunden umgesetzt (Tab. 1, Versuchsreihe 15). Mit dieser Substanz ist der erste Umlauf der Hämolymphe verfolgt worden. Dazu erschien die Umsatzzeit von einer Stunde lang genug.

Technetium-Protein-Komplex

Die Bindung an Protein brachte gegenüber dem technischen Aufwand keinen Vorteil (Tab. 1, Versuchsreihe 16). Der Tracer wurde mit 4,5 ± 0,95 Stunden umgesetzt.

2.4 Diskussion

Die Verdünnungsräume in Tabelle 1 sind recht unterschiedlich. Es sind die auszuwählen, die am wahrscheinlichsten mit dem Hämolymphvolumen identisch sind.

Aus den geschlossenen Blutgefäßsystemen kann man unter Umständen das Blut vollständig ausspülen. Beim Seelöwen Mirouga leonina konnten BRYDEN und LIM [1969] so die Zunahme des Blutvolumens von 11 % auf 16 % der Körpermasse beim Übergang der Jungtiere zum Wasserleben bestimmen. Sie zitieren TURNER und HERMAN [1931], die durch Ausbluten bei Säugern mindestens das gleiche Volumen erhielten wie mittels Farbverdünnung. In offenen Systemen aber hält das Gewebe Flüssigkeit kapillar zurück. Immerhin konnte BAYER [1968] bei Locusta migratoria 18 % und EHRHARDT [1962] bei der Aphide Megoura vicia sogar 27 % der Körpermasse an Flüssigkeit erhalten. Vielleicht vermag man aus weichhäutigen Tieren durch Druck einen größeren Teil der Hämolymphe zu gewinnen als bei den starr gepanzerten Krebsen. Bei Orconectes limosus konnten in dieser Untersuchung unschwer 8 % der Körpermasse "ausgeblutet" werden. Das ist ein Drittel der Hämolymphmenge. Die Befunde von MORRISON und MORRISON [1952] wurden damit bestätigt (Cambarus virilis 8,6 %, Mittel mehrerer Arten: 7,2 %). ZUCKERKANDL [1960] erhielt beim Ausbluten zwischen einem und zwei Drittel des gesamten Hämolymphproteins von Maia squinando. Dies war abhängig vom Häutungszustand des Tieres. Das Ausbluten kann nur eine untere Grenze angeben. Ein rein mechanisches Verfahren hat nur einen Vorteil gegenüber den Verdünnungsmessungen, es ist nicht von der Voraussetzung abhängig, daß die beobachtete Substanz im gesuchten Volumen gleichmäßig verteilt ist.

Die Verteilung von Stoffen benutzt man in drei Verfahren: Erstens kann man ein Volumen durch eine in ihm allein vorhandene und gleichmäßig verteilte Substanz bestimmen. So wurden beim Flußkrebs Protein und Aminosäuren aus den Organen ausgewaschen. Der errechnete Blutraum von 33 % ist zwar größer

als der Inulin-Raum von 24 - 28 %. Doch widerspricht der geringe Unterschied der Vorstellung ZUCKERKANDLs [1960]von sehr großen Proteinreserven in nicht durchströmten Bereichen des Hämocoels. Allerdings wurde nur ein Flußkrebs untersucht.

Beim zweiten Verfahren wird durch Zugabe von Salzlösung die Konzentration eines Stoffes oder der Zellen in der Hämolymphe vermindert. Daraus kann der Hämolymphraum berechnet werden. Durch Injektion großer Salinemengen wird jedoch der Zustand des Versuchsobjektes tiefgreifend gestört. LEE [1961] zählte nach der Injektion von physiologischer Lösung bei Schistocerca gregaria in der Hälfte der Tiere mehr Blutzellen pro Volumeneinheit als vorher. Selbst nach fünfmaliger Hämolymphentnahme sank bei Maia squinando die Proteinkonzentration nur auf die Hälfte (ZUCKERKANDL [1960]).

Die dritte Methode, eine körperfremde Substanz zuzuführen, ist die schonendste und für kontinuierliche Messungen einzig brauchbare. Man kann sich die Deutung von Verdünnungsräumen und -kurven erleichtern, wenn man die folgenden Überlegungen berücksichtigt. Fremde Substanzen werden im Organismus im allgemeinen schnell beseitigt. Man findet eher zu geringe Konzentrationen, errechnet zu hohe Verteilungsräume. Zwischen Verlust und Durchmischung kann unterschieden werden. Alle Stoffe müssen sich bei der Verteilung in der Hämolymphe allein gleich verhalten. Komplizierte Verdünnungskurven weisen auf Verluste aus der zirkulierenden Flüssigkeit hin. Das ist auch der Fall, wenn die Tracer-Räume in der Größe des Körperwassers liegen (Flußkrebs: 75 %). Daß die Tracer, unabhängig von ihrer Konzentration, reproduzierbare Werte ergeben müssen, versteht sich von selbst.

Die Evans-Blau-Räume der einzelnen Tiere streuen so sehr, daß sie nicht als reproduzierbar angesehen werden können. Das mittlere Evans-Blau-Volumen liegt in der Größe des Körper-

wassers. Zwar wird die Farbe fest an Protein gebunden (DAWSON, EVANS und WHIPPLE [1920], SCHWARTZKOPFF [1963],u.a.), beim Flußkrebs aber wurde ein rascher Verlust in den ersten zehn Minuten nach Injektion gemessen. Auch bei den Säugern ist die Abnahme der Konzentration im Blut kompliziert. Es wurden bis zu drei Phasen beschrieben (CRUISHANK und WHITFIELD [1944], MILLER [1947], u. a.). LEVEEN und FISHMANN [1947] weisen auf den reversiblen Charakter der Evans-Blau-Protein-Bindung hin. Wie stark die verschiedenen Farbstoffe im Gewebe angereichert werden können, zeigt eine Übersicht der Vitalfärbung (STOCKINGER [1964]). MALUF [1941] beschrieb die selektive Anreicherung einiger Farbstoffe in den Abschnitten der Antennendrüse von Cambarus clarkii. Eine Ablagerung von Evans Blau in den Kiemen ist in dieser Arbeit bei Orconectes limosus beobachtet worden. Bei hohen Evans-Blau-Dosen reicherte sich die Farbe auch in den Kernen der Herzmuskelzellen an. Der größte Teil des Tracers scheint durch Phagocytose verloren zu gehen. ELSON und WARREN [1944] beschrieben auch einen chemischen Abbau von Azoverbindungen.

Entgegen dem eigenen Mißerfolg wurden von mehreren Autoren bei Crustaceen kleinere Farbstoffräume bestimmt. Im Gegensatz zu dieser Arbeit wurden die Tracer direkt in verdünntem Blut gemessen. BURGER und SMYTHE [1953] extrapolierten bei Homarus americanus ein Evans-Blau-Volumen von 19 % der Körpermasse. DEAN und VERNBERG [1966]erhielten aus der Verdünnung von Methylenblau bei Uca pugilator 16 %. RAGNEKAR [1954]nahm 3 - 4 Minuten nach Injektion von Kongorot aus jedem zur Bewegung stimulierten Tier eine Hämolymphprobe. Er erhielt bei Vertretern dreier Arten gut reproduzierbare Werte, (Scylla serrata: 13 %, Panulirus polyphagus: 17 %, Parathelphusa guerini: 28 % der Körpermasse), sagt aber nichts über die Abnahme der Tracerkonzentration in der Hämolymphe nach Injektion aus. Bei verwandten Formen konnten MORRISON

und MORRISON [1952] mehr Hämolymphe ausbluten als RAGNEKAR [1954] aus der Verdünnungsanalyse errechnete (Scyllarides aequinoctialis: 17 %, Panulirus argus: 20 % der Körpermasse).

PROSSER und WEINSTEIN [1949] fanden bei Cambarus virilis für Rhodanid und Evans Blau den gleichen mittleren Verdünnungsraum. Die Streuungen von 9,9 bis 42,8 % für den Farb- und 16,6 bis 47,6 % für den Rhodanid-Raum sind jedoch so groß, daß der Übereinstimmung der Mittelwerte keinerlei Bedeutung zugemessen werden kann. Die Schlußfolgerung, der extrazelluläre Raum sei einheitlich, wurde freilich in dieser Arbeit mit anderen Tracern bestätigt. Die Verteilung von Rhodanid in den Körperflüssigkeiten des Flußkrebses ist kompliziert. Deshalb sind FLEMISTERs [1958] Schlußfolgerungen nicht kritiklos zu übernehmen. An drei Krabben fand er für Inulin einen kleineren Verteilungsraum (19 - 21 % der Körpermasse) als für Rhodanid (29 - 34 %). Dies deutet er als Hinweis auf eine funktionelle, von der übrigen extrazellulären Flüssigkeit abgeschlossene Zirkulation. Ich kann mir in einer stark durchmischten Körperflüssigkeit keinen Mechanismus vorstellen, der innerhalb von 3 Stunden eine solche Trennung der beiden niedermolekularen Tracer aufrecht erhalten sollte. Die konzentrationsabhängige Aufnahme von Rhodanid durch die Körperoberfläche und die Abhängigkeit des errechneten kleineren Tracer-Raumes vom zeitlichen Abstand der Messung nach Injektion veranlassen mich, Rhodanid als Tracer der Hämolymphe abzulehnen.

Aus der Pertechnetat-Verdünnungskurve mußte ebenfalls auf eine komplizierte Verteilung in mindestens zwei Tracer-Räume geschlossen werden. Doch wurde mit dieser Substanz nur der erste Umlauf in der Hämolymphe verfolgt. Eine Kopplung an Protein lohnt sich nicht. Auch das J-131-Hämocyanin wurde, mit gleicher Rate wie das Tritium-methoxy-Inulin, aus der Hämolymphe entfernt. Es ist denkbar, daß in offenen Kreislaufsystemen ein sehr enger Kontakt der Hämolymphe zu verschiedenen phagocytotischen und anderen absorbierenden Strukturen besteht.

Für die Bestimmung des Hämolymphvolumens bewährten sich die Polysaccharide Inulin und Blue Dextran. Gefärbtes Dextran kann auf seinem Weg im Versuchstier beobachtet werden. Inulin hat sich auch bei Mollusken als brauchbar erwiesen (MARTIN und Mitarbeiter [1958]). Es scheint allgemein die geeignetste Substanz zur Markierung der extrazellulären Flüssigkeit zu sein. Obwohl ein direkt markiertes Polysaccharid den substituierten Inulin-Verbindungen vorzuziehen wäre, konnte doch das Tritium-methoxy-Inulin fast vollständig mit gleicher Umsatzrate in Blut und Haltungswasser wiedergefunden werden. MALUF [1941] fand keine Umsetzung des inaktiven Inulins bei Cambarus clarkii. RIEGEL und KIRSCHNER [1960] beobachteten trotz eines Konzentrationsunterschiedes von zwei Zehnerpotenzen die gleiche Urin-Blut-Rate für C-14-markiertes und inaktives Inulin in Orconectes virilis. Bei den Polysacchariden wurden die einfachsten Verdünnungskurven gemessen. Die Verdünnungsräume von markiertem und inaktivem Inulin, Blue Dextran 2000 und J-131-Protein sind in dieser Arbeit die kleinsten beobachteten. Ihre Verteilungsvolumina von 24 - 28 % der Körpermasse sind mit dem Hämolymphraum numerisch und anatomisch gleichzusetzen. Mit C-14-carboxy-Inulin haben RIEGEL und PARKER [1960] eine Abhängigkeit des Hämolymphraumes von der Körpergröße bei Orconectes virilis und Procambarus clarkii gemessen. Für ein 20-g-Tier errechnete sich ein Inulin-Raum von 37,8 bzw. 24,6 % der Körpermasse. Eine solche Größenabhängigkeit konnte für Orconectes limosus nicht bestätigt werden. Die Population der Versuchstiere lag auch in einem engeren Größenbereich. Bei Pacifastacus leniusculus verteilte sich der gleiche Tracer in einem Volumen von 27 $\pm$ 0,5 % (KERLEY und PRITCHARD [1967]).

Wenn man von der sprunghaften Änderung des Wasserhaushaltes während der Häutung absieht, scheint das Hämolymphvolumen innerhalb einer Art gegenüber verschiedenen Einflüssen

recht konstant zu sein. In den eigenen Versuchen ergaben sich vom August bis zum April gleich große Polysaccharid- Räume. CROWLEY [1963] hat bei Astacus nigrescens nur eine Schwankung zwischen 30 und 35 % der Körpermasse im Winter und 25 % im Sommer gefunden. Er benutzte allerdings $NaS^{14}CN$ als Tracer und nahm nur eine Hämolymphprobe (60 Minuten nach Injektion). Bei Uca pugilator steigen nach DEAN und VERNBERG [1966] zwar mit der Versuchstemperatur auch Zellengehalt und Proteinkonzentration, nicht aber das Volumen der Hämolymphe. Bei einer schrittweisen Überführung in Meerwasser verändert der Süßwasserkrebs Pacifastacus leniusculus weder das Hämolymphvolumen noch den Wassergehalt des Körpers (KERLEY und PRITCHARD [1967]).

Angehörige verschiedener systematischer Gruppen kann man nur bedingt miteinander vergleichen. Schon innerhalb der Brachyuren werden Unterschiede des ausblutbaren Anteils nur vorgetäuscht. Bezogen auf die Körpermasse konnte man aus den trägeren, stark gepanzerten Krabben weniger Hämolymphe gewinnen als aus den dünnschaligen (Plagusia, Eupanopeus: 5,5 und 3,5 %, Callinectes, Gecarcinus: 10,5 und 9,5 % der Körpermasse) (MORRISON und MORRISON [1952]). Gemessen am Wassergehalt der Tiere lagen alle Werte aber in einem engen Größenbereich (10,4 bis 13,8 % der Wassermenge). Innerhalb der Dekapoden scheinen die Hämolymphvolumina von Süßwasserbewohnern größer zu sein als die von marinen Formen (Tab. 2, Seite 24). Dies dürfte nicht durch unterschiedliche Körpergrößen vorgetäuscht sein, eher mit dem Anteil des Panzers am Gesamtkörper zusammenhängen. Einen Vergleich mit den Körperflüssigkeiten anderer Tiere bringt Tabelle 3, Seite 25/26, ohne damit Anspruch auf Vollständigkeit zu erheben. Die Größen der extrazellulären Flüssigkeit und des Wassergehaltes der Wirbeltiere und des gemessenen Tintenfisches sind mit denen der Crustaceen vergleichbar. Aus der numerischen Übereinstimmung von ausblutbarem Anteil bei Crustaceen (MORRISON und MORRISON [1952]) und dem Blutvolumen der Säuger kann aber nicht auf eine funktionelle Gliederung des Dekapodenkreislaufs geschlossen werden.

Tabelle 2: Hämolymphvolumina von süßwasserbewohnenden und marinen Dekapoden.
Masse: x mittlere Masse unter 50 g
0 nicht bekannt

	Autor	Tier	Hämolymph-volumen % Körpermasse	Masse
marin	RAGNEKAR [1954]	Scylla serrata	13	0
		Panulirus polyphagus	17	0
	BURGER und SMYTHE [1953]	Homarus americanus	19	
	DEAN und VERNBERG [1966]	Uca pugilator	16	0
	FLEMISTER [1958] (Inulin)	Gecarcinus lateralis	19	x
		Ocypode albicans	22	x
		Goniopsis cruentatus	20	x
Süß-wasser	RAGNEKAR [1954]	Parathelphusa guerini	28	0
	RIEGEL und PARKER [1960] (auf 20 g umgerechnet)	Orconectes virilis	38	x
		Procambarus clarkii	25	x
	CROWLEY [1963]	Astacus nigrescens	25 - 35	0
	KERLEY und PRITCHARD [1967]	Pacifastacus leniusculus	28	x
	eigene Werte	Orconectes limosus	24 - 28	x

Tabelle 3: Blutvolumen, extrazelluläre Flüssigkeit u. Wassergehalt

Angaben in Volumen/Masse als % der Körpermasse, Wirbeltiere und Krebse mit Skelett, Molusken ohne Schale, Werte abgerundet
(EB = Evans Blau)
(a = ausgewaschen)

Tierart	Autor	Tracer	Blut	extrazellulärer Raum	Gesamtkörperwasser
			% der Körpermasse		
1. Geschlossener Kreislauf					
Säugetiere					
Mensch	WOODBURY [1966]	-	8	24	60
übrige	GRAUWILER [1965]		5-9	-	-
Reptilien					
Chrysemis	DERRICKSON et al. [1934]	a	8	-	-
Amphibien					
allgemein	DEYRUP [1964]	-	-	17-29	73-82
Triturus	PEYROT et al. [1965]	^{59}Fe	9	-	-
Rana	PROSSER et al. [1949]	EB	7	-	-
Rana	DERICKSON et al. [1934]	a	6,4	-	-
Teleostier					
Ameiurus	PROSSER et.al. [1949]	EB	1,2	-	-
Clarius	YANNI [1961]	-	-	-	73-85
Elasmobranchier					
Raja	MARTIN [1947]	Vital-rot	1,5	-	-
Squalus sucklii	MARTIN [1947]		4-5	-	-
Squalus acanthia	DERRICKSON et al. [1934]	a	4	-	-
Mollusken					
Octopus	MARTIN et al. [1958]	EB	6	28	83

Tabelle 3: Fortsetzung

Tierart	Autor	Tracer	extrazellulärer Raum	Gesamtkörperwasser
			% der Körpermasse	
2. Offene Kreisläufe				
Mollusken				
Cryptochiton	MARTIN et al. [1958]	Inulin	44	85
Aplysia	"		79	92
Archidoris	"		66	92
Achatina	"		40	86
Arion	"		37	89
Mytilus	"		51	88
Margaritana	"		49	83
Crustaceen (s. Tab. 2, S. 24, hier haupts. Wassergehalt)				
Gecarcinus	FLEMISTER [1958]	Inulin	19	66
Ocypode	"	"	21	70
Goniopsis	"	"	20	65
Talorchestia	EDWARD und IRVING [1942a,b]		-	70
Emerita	"		-	73
Plagusia	MORRISON und MORRISON [1952]		-	53-54
Callinectes	"		-	76-78
Caenestheriella	MICHAEL et al. [1967]		67	74
Orconectes	diese Arbeit		24-28	70-75
Insekten				
allgemein	WEBER [1961]		5-40	-
Larven	WIGGLESWORTH [1965]		20-40	-
Schistocerca	LEE [1961]		8-23	63-72
Prodenia	LEVENBOOK [1958]	Inulin	27	-
Periplaneta	YEAGER et al. [1932]		7	-

3 K r e i s l a u f k i n e t i k

3.1 E i n l e i t u n g

3.1.1 A l l g e m e i n e s

Über die zeitlichen und räumlichen Vorgänge bei der Dekapoden-Zirkulation ist wenig bekannt. Überdies sind die Meinungen noch geteilt. ZUCKERKANDL [1960] schließt aus Beobachtungen an Maia auf eine funktionelle Gliederung der Hämolymphe in einen fortwährend umlaufenden, einen bei Bedarf durchströmten und einen ständig ruhenden Anteil. Die Durchmischung des Hämocoels sei sehr langsam. Angetrieben werde die Zirkulation hauptsächlich durch die willkürlichen Muskelbewegungen bei Aktivität. Er schließt dies aus Farbverteilungen, Abhängigkeit der Giftwirkung vom Injektionsort und Ausblutungen. BURGER und SMYTHE [1953] dagegen konnten Tuschepartikel kurz nach der Injektion überall im Hummer wiederfinden. Sie schließen auf eine rasche Durchmischung in geordneten Bahnen.

Um die Durchströmung des Hämocoels kennenzulernen, wurden Richtung und Breite der Strömungsbahnen beobachtet. Gibt es größere Bereiche intensiv zirkulierender Flüssigkeit, so sollten sich engere Strömungsfäden von der übrigen Hämolymphe abheben. Es wurde geprüft, ob einige Organe in bestimmter Reihenfolge durchströmt werden. Über die Durchmischung des Hämocoels gibt die Verdünnungsanalyse Auskunft. Die im vorigen Kapitel vorausgesetzte gleichmäßige und schnelle Verteilung der Tracer wird hier überprüft. Da nach SCHWARTZKOPFF [1953a] mit einer raschen Verteilung des Tracers im Hämocoel in der Größenordnung einer Minute zu rechnen war, mußten besondere Methoden erprobt werden. Die Beobachtungen der Strömungsbahnen und die Messungen der Verteilungsgeschwindigkeiten werden aus methodischen Gründen getrennt behandelt. Die zum Verständnis der Versuche notwendigen anatomischen Einzelheiten werden vorausgeschickt.

3.1.2 Funktionelle Anatomie des Kreislaufes

Es ist für diese Untersuchung ausreichend, folgendes Bild der Zirkulation bei Dekapoden im Gedächtnis zu haben: Die Hämolymphe wird vom Herzen aus nach allen Seiten direkt transportiert. Gefäße gehen zu den Organen und in die Extremitäten nach vorn, hinten und unten. Im Gewebe tritt die Hämolymphe in interzelluläre Spalten aus. Sie sammelt sich danach in größeren Hohlräumen (Lakunen). Von vorn und hinten strömt sie zur Mitte des Körpers hin, durchläuft die Kiemen und die Vasa branchiopericardiaca. Dort durchmischt, wird sie vom Herzen aus dem Perikard aufgenommen und wieder überall hin verteilt.

Einzelheiten über den Bau des Herzens und des Gefäßsystems mag man in den Übersichten von BALSS [1944], GIESBRECHT [1921] und MAYNARD [1960 a] nachlesen. Spezielle Beschreibungen geben unter anderem BAUMANN [1921] für Astacus fluviatilis, BRODY und PERKINS [1930] für Palaemonetes vulgaris und GEORGE, REUBEN und MUTHE [1955] für Panulirus polyphagus. Die Arbeiten über den Einfluß von Ionen oder Pharmaka auf das Herz und Perikard enthalten für diese Untersuchungen kaum Brauchbares. Accessorische Antriebsorgane (BAUMANN [1917], GERSCHLER [1910]) wurden vernachlässigt. Aus den morphologischen Untersuchungen wurde geschlossen, daß alle Teile des Körpers direkt vom Herzen aus nach ihren "Bedürfnissen" versorgt wurden: Magen, Gonade und erste Antenne jeweils von zwei Gefäßstämmen. Der Weg innerhalb dieser genau definierten Bahnen wurde nicht weiter betrachtet. Nach URICH [1966] kann in offenen Kreisläufen nur das Herzminutenvolumen, nicht die Verteilung der Flüssigkeit reguliert werden.

3.2 Richtung und Form der Strömungsbahnen

3.2.1 Allgemeines

Die Strömung außerhalb der Gefäße wird von BURGER und SMYTHE [1953] und LEONTOWITSCH [1911] im Gegensatz zu ZUCKERKANDL [1960] als geordnet beschrieben. Sie kann nur schwer dargestellt werden. Die adulten Tiere sind weitgehend undurchsichtig. So wurde Farbe injiziert und das durch Einfrieren schnell fixierte Tier zerschnitten. Die Verteilung stärker absorbierender Stoffe ist mit Röntgenstrahlen verfolgt worden. Direkt beobachten kann man den Fluß der Hämolymphzellen in den durchsichtigen Jungtieren.

3.2.2 Material und Methoden

Gefrierschnitte waren leicht herzustellen und ermöglichten eine erste Übersicht. Um die Strömungsbahnen der Hämolymphe zu verfolgen, wurden zuerst 0,2 ml einer Farbstoff-Protein-Lösung ins Herz bzw. Perikard injiziert. Die Viskosität von Körperflüssigkeit und Injektionslösung sollte möglichst gleich sein. Deshalb wurde Hämolymphe desselben Tieres benutzt. Um die Krebse zu verschiedenen Zeiten nach Eingabe der Farblösung schnell zu fixieren, wurden sie in mit flüssiger Luft gekühltem Propanol eingefroren. Das Tier hatte dann eine gleichmäßige Härte und konnte mit einer kleinen Kreissäge zerlegt werden. Die Fläche der Schnitte wurde mit der Kante eines Objektträgers gesäubert. Das gefrorene Tier und die Schnitte mußten bis zur photographischen Aufnahme tiefgekühlt bleiben. Die Farben verändern sich sonst, und die Kristalle vergrößern sich. Es wurden Farbdias hergestellt. Deren Wiedergabe in dieser Arbeit ist technisch nicht möglich. Statt die Verteilung

des Farbstoffes auf den Gefrierschnitten zu verfolgen, hätte auch die Ausbreitung eines Betastrahlers auf Radioautographien ausgezählt werden können, doch erschien der Aufwand nicht gerechtfertigt.

Zwei Fehlerquellen minderten den Wert der Methode. Einerseits fror das Tier nicht sofort durch. Da das Herz aber nahe der Oberfläche liegt, konnte ein schneller Stillstand der Zirkulation angenommen werden. Mitunter zuckten Tiere noch nach einigen Sekunden im gekühlten Propanol. Der Schwanz gefror meist im kontrahierten Zustand und wurde zum Schnitt wieder gerade gerichtet. Aber auch durch die Ausdehnung des Wassers beim Einfrieren konnte sich Flüssigkeit verschieben. Meist trat gefärbte Hämolymphe aus. Das Exoskelett des Carapax blieb in der Länge konstant, dehnte sich aber in der Breite um 6 $\pm$ 2,3 % aus.

Beim R ö n t g e n k o n t r a s t v e r f a h r e n kann derselbe Krebs zu verschiedenen Zeiten nach der Injektion eines Tracers beobachtet werden. Auch weiche Röntgenstrahlen vermögen den Flußkrebs zu durchdringen. Wo stark absorbierende Stellen im Strahlengang liegen, wird ein photographischer Film weniger belichtet. Die Absorption nimmt mit der vierten Potenz (NEWELL[1951]) der Ordnungszahl zu. Daher war ein Tracer für die Hämolymphe einzuführen, der selbst gegenüber dem Calcium im Panzer (Z = 20) eine wesentlich höhere Ordnungszahl hat. Lösungen jodhaltiger (Z = 53) organischer Verbindungen wurden aus dem klinischen Routinebetrieb übernommen. Endografin, Urografin und das hauptsächlich benutzte Conray 60 lieferten die gleichen Resultate. Sie waren nicht giftig. Auch nach einer Woche war keine Ablagerung röntgendichteren Materials zu sehen. Nachteilig könnte nur die hohe Viskosität der Präparate sein. Suspensionen von Schwermetalloxiden sollten einmal erprobt werden. Um einen sichtbaren Kontrast zu erhalten, mußten 0,5 ml der Lösung

injiziert werden. Das sind etwa 10 % des Hämolymphvolumens eines 20 g schweren Tieres. Die Strömungen im Hämocoel müßten durch ihren unterschiedlichen Gehalt an Kontrastmittel zu sehen sein. Da sich die Substanz aber schnell verteilte, also solche Kontraste nur in geringem Maße beobachtet wurden, mußte besonders auf technische Fehlermöglichkeiten geachtet werden. (GLASSER [1951], POPPE [1966] und SCHLUNGBAUM [1967]).

Es wurden weiche Strahlen benutzt (34 kV/0,03 sec. bzw. mit gleichem Ergebnis 48 kV/0,08 sec., Philips RÖ 30, Apparatur für den klinischen Routinebetrieb). Eine Verdünnungsreihe zeigte, daß das verteilte Kontrastmittel nur eine geringe Aufhellung des Objektes bringen konnte. Mit einer Bucky-Blende wurde die Streustrahlung vermindert. An der Schere war eine Ader von 0,2 mm Durchmesser dargestellt worden. Durch den relativ geringen Objekt-Film-Abstand um 10 cm gegenüber der Fokus-Film Entfernung von 110 cm ist das Tier fast parallel auf dem Film abgebildet worden. Die Verzerrung, mit einem Bleilineal aufgenommen, betrug maximal 1,5 %. Auch der Mull, in dem das Tier ruhig liegen blieb, verschlechterte das Bild nicht. Die Entwicklung der Aufnahmen (Kodak Feinkorn, Estar blue base, 13 . 18 cm) erfolgte automatisch. Alle 1,5 bis 3 Minuten konnte ein neuer Film in die Kassette eingelegt werden. Es wurde in Perikard, Schere, Pleon und Beingelenke injiziert und das Tier in Bauch-, Rücken- und seitlicher Lage aufgenommen. Dabei wurde der Krebs zwischen den Aufnahmen bisweilen in Wasser zur Bewegung stimuliert. Die 128 Aufnahmen der 27 Tiere wurden nur visuell ausgewertet. In Vergrößerungstechnik (etwa 2 : 1) ist mit einer Fernsehkette die Injektion in Herz und Schere noch einmal in Zusammenarbeit mit Herrn Dr. Liese, Heilig-Geist-Krankenhaus, Köln, kontinuierlich beobachtet und mittels einer Zielkamera dokumentiert worden.

Die von der Hämolymphe mitgeführten Z e l l e n können an den noch durchsichtigen Jungtieren kontinuierlich verfolgt werden. Diese wurden, nachdem sie sich vom Muttertier abgelöst hatten, in Becken mit Wasserpflanzen gehalten. Die kleinen Krebse von etwa 0,1 cm Länge gleichen den Adulten (kaum länger als 10 cm) weitgehend. Die Ergebnisse sind also auf die Erwachsenen zu übertragen. Die Jungtiere wurden in eine von Paraffinwänden gebildete Wanne auf einen Objektträger gebracht. Ein dickeres Deckglas hinderte sie an heftiger Fortbewegung. Die verschiedenen Zellformen in der Hämolymphe wurden nicht unterschieden. Nur die Extremitäten und ein Teil des Pleon waren durchsichtig genug. Die Messungen wurden mit einer Ausnahme (ventrale Lakune des Pleon) an den Gliedmaßen durchgeführt. Die Extremitäten nehmen ein Drittel der Körpermasse ein. Wenn die Ergebnisse vielleicht nicht auf den Körperstamm übertragen werden können, so gelten sie doch für einen großen Teil des Tieres. Die Gliedmaßen sind nicht nur durchsichtig, sie sind vor allem übersichtlich gebaut. Die Gefäße führen, wenn auch unter Verzweigungen, bis an ihre Enden. Die Hämolymphe strömt von dort, ohne in Gefäßwände eingeschlossen zu sein, zum Körper zurück. In der Geißel des Endopoditen der zweiten Antenne, im folgenden kurz "zweite Antenne" genannt, fehlen sogar die Muskeln. Neben den Nerven sind nur ein Ein- und ein Ausstromrohr vorhanden.

Durch den beobachteten Körperteil wurde eine optische Ebene gelegt. In der Bildebene des Mikroskoptubus war eine Skala angebracht worden. Es wurden alle Zellen registriert, die innerhalb einer bestimmten Zeit diese Skala passierten. Deren Unterteilung (1mm des Objektes in 95 Skalenteile) erlaubte es, die Durchgänge der Zellen in den verschiedenen Teilen eines Querschnitts zu zählen. Die Durchgangshäufigkeiten, die Anteile aller beobachteten Hämolymphzellen innerhalb einzelner Abschnitte der Skala, lassen Aussagen über die Form des Hämolymphflusses zu. Allerdings sind Durchgangshäufigkeit und Fließgeschwindigkeit sicherlich nicht pro-

portional. Außerdem wurden Zählungen bei verschiedenen Kreislaufintensitäten zusammengefaßt. Da die Hämolymphzellen unregelmäßig sind und ihr Fließverhalten nicht bekannt war, wurde auf einen Vergleich von theoretischen und empirischen Verteilungen verzichtet. Es wurde ausgeschlossen, daß sich die Zellen beim Einstrom behindern. Sie erreichen das zuführende Gefäß mit statistischer Sequenz. An der zweiten Antenne war dreimal bei konstanter Hämolymphgeschwindigkeit bis zu 7 Minuten lang eine Übereinstimmung von theoretischem Wert (Quadratwurzel der Zellenzahl pro Zeiteinheit) und berechneter Streuung gefunden worden.

Um den Einfluß der Körperbewegung auf die Fließgeschwindigkeit zu messen, wurde die Zahl der pro Zeiteinheit in eine Extremität ein- und ausströmenden Hämolymphzellen gemessen. Es werden aber nicht alle Zellen gleichzeitig frei von der Hämolymphe transportiert.Bei Insekten schwankt der Anteil mobilisierter Zellen stark (FISCHER [1935], TAUBER und YEAGER [1935], u. a.). Daher mußte bewiesen werden, daß im Beobachtungsgebiet die Zahl der ein- und auslaufenden Zellen gleich ist, ein stationärer Zustand herrscht. Dreimal wurden an der zweiten Antenne bis zu 28 Minuten lang, einmal an einem linken dritten Pereiopoden 34 Minuten lang und einmal an einem linken äußeren Uropodenglied die Übereinstimmung von Ein- und Ausstrom nach dem t-Test mit $P < 0{,}05$ gesichert.

3.2.3 Ergebnisse

3.2.3.1 Gefrierschnitte

Die vom Herzen ausgehenden Gefäße enthielten bereits beim ersten Versuchstier nach 10 Sekunden gefärbte Hämolymphe. Sie war dann auch schon gleichmäßig im Carapax verteilt.

Besonders abgegrenzte Bahnen außerhalb der Gefäße ließen sich nicht erkennen. Nur in zwei Fällen waren die zentralen Stromfäden der ventralen Lakune des Pleon allein markiert. Strittig blieb der Eindruck, das Pleon werde langsamer durchströmt. Der große Anteil weißer bis rötlicher Muskelmassen ist auch nach 10 Minuten noch nicht angefärbt. Offenbar wird die evansblau-haltige Hämolymphe bei der Kontraktion oder beim Einfrieren ausgepreßt. Ein Einfluß der Bewegung des Tieres auf die Anfärbung des Muskels war nicht deutlich zu erkennen.

ZUCKERKANDL [1960] injizierte Maia eine kleinere Menge Farblösung in die Lakune um das Bauchmark. Der Farbfleck blieb dort liegen. Ähnliches wurde beim Flußkrebs beobachtet. Dies widerspricht allen anderen Beobachtungen. Ergänzend wurde gesehen, daß der Farbstoff eindeutig seitlich vom Nervensystem in laminaren Strömungsfäden nach vorn getragen wird. Es wurde versucht, Farbkristalle in die Strömung einzubringen und durch ihre Auflösung das Fließen der Hämolymphe zu verfolgen. Die von diesen Tieren angefertigten Schnitte brachten keine befriedigenden Ergebnisse. Die Farbkonzentration war zum Nachweis offenbar zu gering.

3.2.3.2 Röntgenkontrastverfahren

Injizierte man ins Perikard, so ergibt sich kein Kontrast in der Peripherie. Der Tracer wurde offenbar sofort verteilt. Die Gefäße waren nur während und kurz nach der Injektion zu sehen. Nur wenn ins Perikard injiziert wurde, ist dieses und die Vasa branchiopericardiaca schlagartig markiert worden. Der Kontrast blieb zwischen 3,5 und 15 Minuten (10 Tiere) auch dann erhalten, wenn das Tier zu Bewegungen in einem Wasserbecken stimuliert wurde. Ob dies eine Folge des geringeren Druckes im Perikard gegenüber dem übrigen Hämolymphraum ist oder ob an dieser Stelle die Hämolymphe besonders langsam strömt, war nicht zu klären.

Injektionen in die Beingelenke, die Schere und die Lakunen des Pleon ergaben ein übereinstimmendes Bild. Das Kontrastmittel wurde auf breiten Bahnen zum Herzen hin befördert. Die Strömungsrichtung war eindeutig und konstant. Von der Schere aus drang der Tracer nicht bis zur hintersten Kieme, vom Pleon her nicht über die Scherenbasis hinaus vor. Konnte von der Injektionsstelle zum Herzen hin noch Kontrastmittel wahrgenommen werden, so wurden danach weder die Adern markiert, noch war Kontrast an anderen Körperstellen sichtbar. Man kann daraus schließen, daß die Hämolymphe spätestens im Herzen vermischt wird. Es wäre ja denkbar, daß von der Injektionsstelle ein dünner Strom zum Herzen gehend, von diesem in bestimmte Gefäßgebiete geleitet würde. Nach BAUMANN [1921] ist das Innere des Herzens gegliedert. Vielmehr werden alle Bereiche des Körpers, wenn auch nicht gleichmäßig, so doch ohne krasse Unterschiede versorgt.

Das Kontrastmittel hielt sich an einigen Stellen des Körpers bis zu 5 Minuten. Wurde in die Beingelenke injiziert, so war der Tracer zwischen 0,5 und 3,5 Minuten aus dem Carapax verschwunden. Nach Eingabe in die Schere war er bis zu 5 Minuten im Vorderteil des Tieres noch zu erkennen. Nach zwei Minuten zeigten zwei übereinstimmende Serien nach Injektion in die ventrale Lakune um das Bauchmark bereits keine Markierung mehr. In einem anderen Falle war sie abgeschwächt noch nach 4,5 Minuten erkennbar. Das wurde auch nach Einspritzung in die dorsale Lakune um den Enddarm herum gefunden.

Einem Tier (ca. 20 g) wurde zu seinem Hämolymphvolumen ein Drittel Kontrastmittel gegeben. Eine solche Zunahme ist nach ANDREWS [1967] im Verlaufe der Häutung zu erwarten. Die Aufnahme 60 Sekunden nach der dritten Injektion von 0,5 ml Conray 60 zeigte eine gleichmäßige Markierung des Vorderkörpers. Nur im Pleon waren fadenförmige Strukturen zu sehen,

die aber spätestens nach 15 Minuten einer gleichmäßigen Aufhellung (Verstärkung der Absorption) wichen. Die Hämolymphmenge eines zweiten Tieres wurde um ein Viertel erhöht. Es war nur eine Aufhellung zu sehen. Beide Tiere überlebten den Eingriff länger als eine Woche. Der Kreislauf scheint gegenüber größeren Volumenzunahmen stabil zu sein. Dies ist zumindest während der Häutung notwendig.

3.2.3.3 Beobachtung der Hämolymphzellen an Jungtieren

Ein Windkesseleffekt wurde beobachtet: Die Zellen strömten gleichmäßig. Nach längerer, bewegungsloser Lagerung des Tieres kann es aber zu einer reversiblen Verlangsamung, ja sogar zum Stillstand der Zirkulation kommen. Einmal wurde eine ruckhafte Bewegung der Zellen ab 160 Herzschlägen pro Minute (Ausgangsfrequenz: 270 $min.^{-1}$) beobachtet. Ein anderes Mal blieb die Herzfrequenz konstant. BURGER und SMYTHE [1953] konnten den Windkesseleffekt durch gleichzeitige Messung des Herz- und des Aortenpulsdruckes nachweisen.

Die Hämolymphzellen wurden von der Strömung auf geradliniger Bahn fortgetragen, außer wenn die Zellen an seitliche Begrenzungen anstießen. Danach ist der Rückstrom in den Extremitäten laminar. Die Strombahn blieb konstant: 67 Mittelwerte aus jeweils 10 Durchgängen auf der Meßskala lagen innerhalb des Vertrauensbereiches $\bar{x} \pm t\ (0{,}01/9)\ .\ s$ (DOERFFEL [1962]). Es war auch keine Abhängigkeit der Zellverteilung von der Fließgeschwindigkeit festzustellen. Die formal berechneten Standardabweichungen zeigten keinen Gang. Die Breite der Strömungsbahnen zurück zum Herzen wurde als Anteil der Durchgänge durch bestimmte Bereiche der Meßskala bestimmt. Man darf bei der Auswertung nicht vergessen, daß gleichmäßiger Durchlauf durch eine zylinderförmige Extremität in der hier gebrauchten Projektion eine Häufung zur Mitte hin ergibt.

Ein solches Bild ergab sich aus den Meßwerten an der Basis der ersten Antenne (Abb. 1 a, Seite 38). Der Rückstrom zum Körperstamm verteilte sich nahezu über die gesamte Extremität. An anderen Beobachtungsstellen waren besondere, aber nicht eng abgegrenzte Bahnen zu sehen (Abb. 1 b - 1 d). An der Meßstelle in Abb. 1 b war der Hämolymphstrom von Muskeln verdrängt, in Abb. 1 c nach den Seiten hin verschoben. Der Ausstrom aus dem äußeren Glied des rechten Uropoden (Abb. 1 d) wurde hauptsächlich durch morphologische Gegebenheiten geformt. Im Uropoden selbst waren häufigste Wege zu erkennen. Die Hämolymphkörperchen bewegten sich im lockeren Gewebe wie Kugeln in einem Zufallsapparat.

In der ventralen Lakune um das Bauchmark herum war die Durchgangsverteilung, anders als in den Extremitäten, deutlich von der Strömungsgeschwindigkeit abhängig. Bei schnellem Fluß wurden die Zellen aus den Spalten des Schwanzmuskels weiter zur Mitte hin getragen. Die stärkere Häufung links und rechts zum Bauchmark hin wird aus dem Vergleich der Abbildung 1 e und 1 f deutlich. Ein streng laminarer Fluß war zu beobachten.

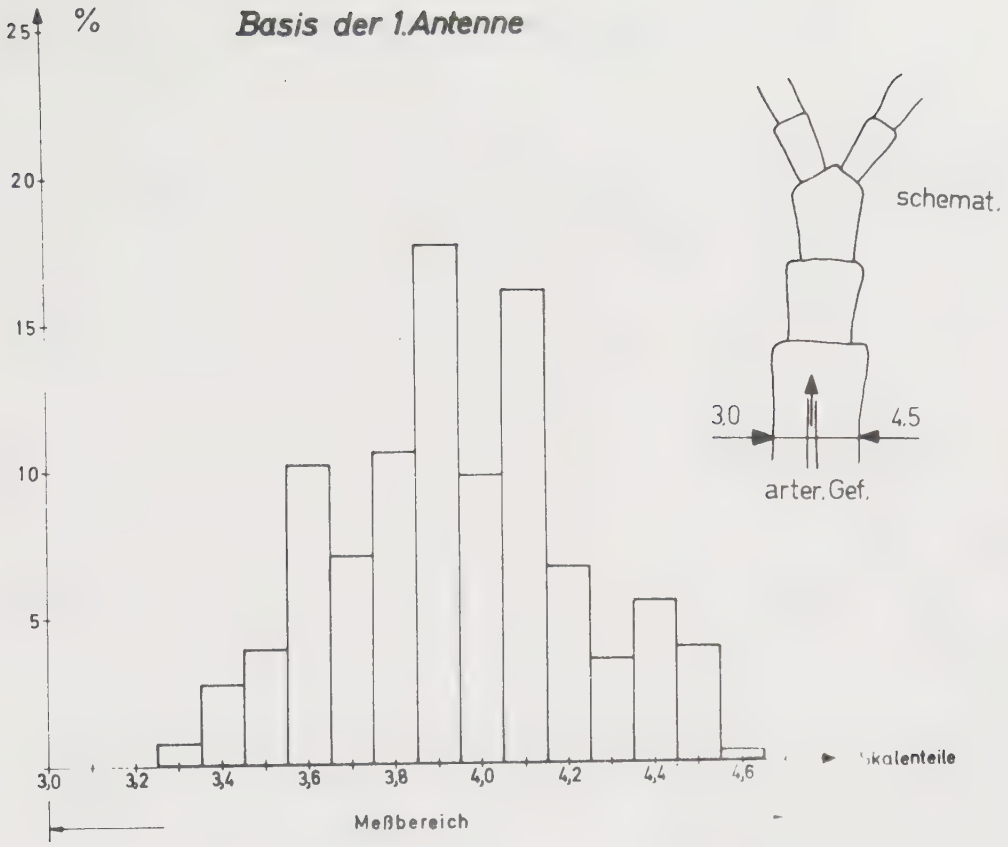
Für eine laminare Strömung sprach auch die in einer zweiten Antenne für den Rückfluß in fast röhrenförmigem Behälter aufgenommene Häufigkeitsverteilung. Ihre Parabelform wies darauf hin, daß die Hämolymphe als NEWTON'sche Flüssigkeit angesehen werden kann.

Das schon erwähnte Nachlassen des Kreislaufes bei Ruhigstellung zeigt Abb. 2, Seite 42, Kurve a. DUBUISSON [1928] beschreibt ebenfalls eine Verlangsamung des Zellenstromes bei einem festgelegten Gammariden (Hyale camptonix). Der Hämolymphfluß kann bei Bewegung schneller werden (Kurve b), doch ist ein solcher Anstieg nicht mit der Bewegung verknüpft (Kurve c), wird also nicht von ihr verursacht. Dies widerspricht der Vorstellung von ZUCKERKANDL [1960], Hauptantrieb der Dekapodenzirkulation seien die willkürlichen Muskelbewegungen.

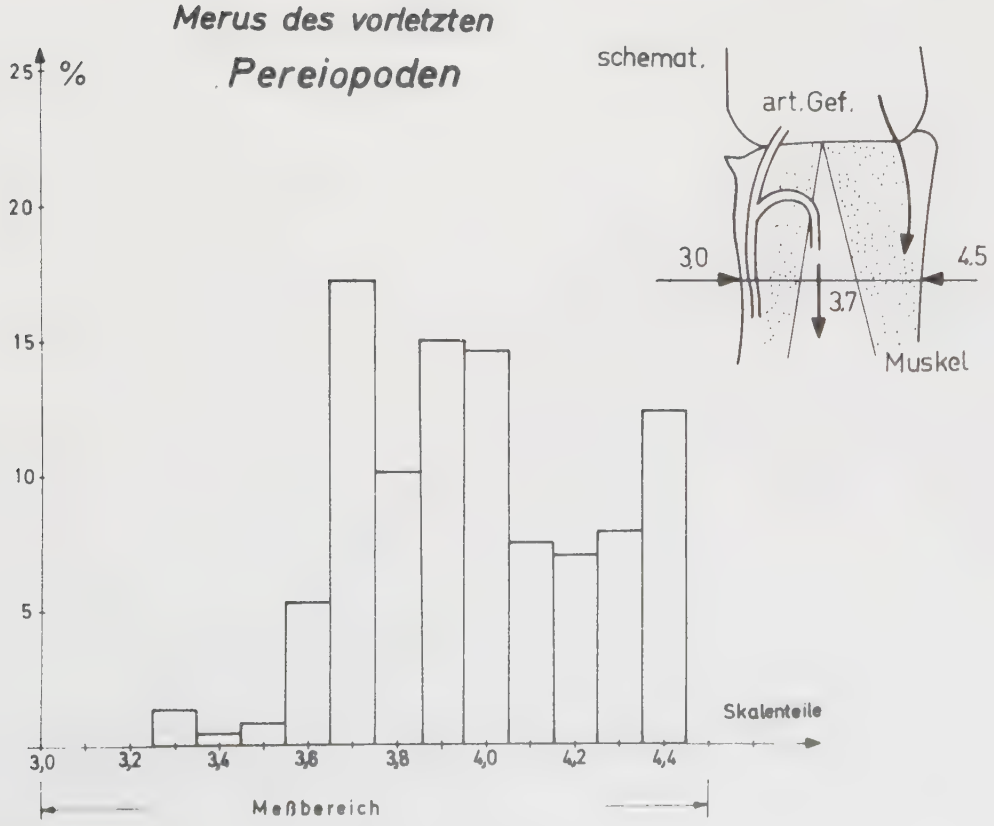
Abbildung 1 a - f:

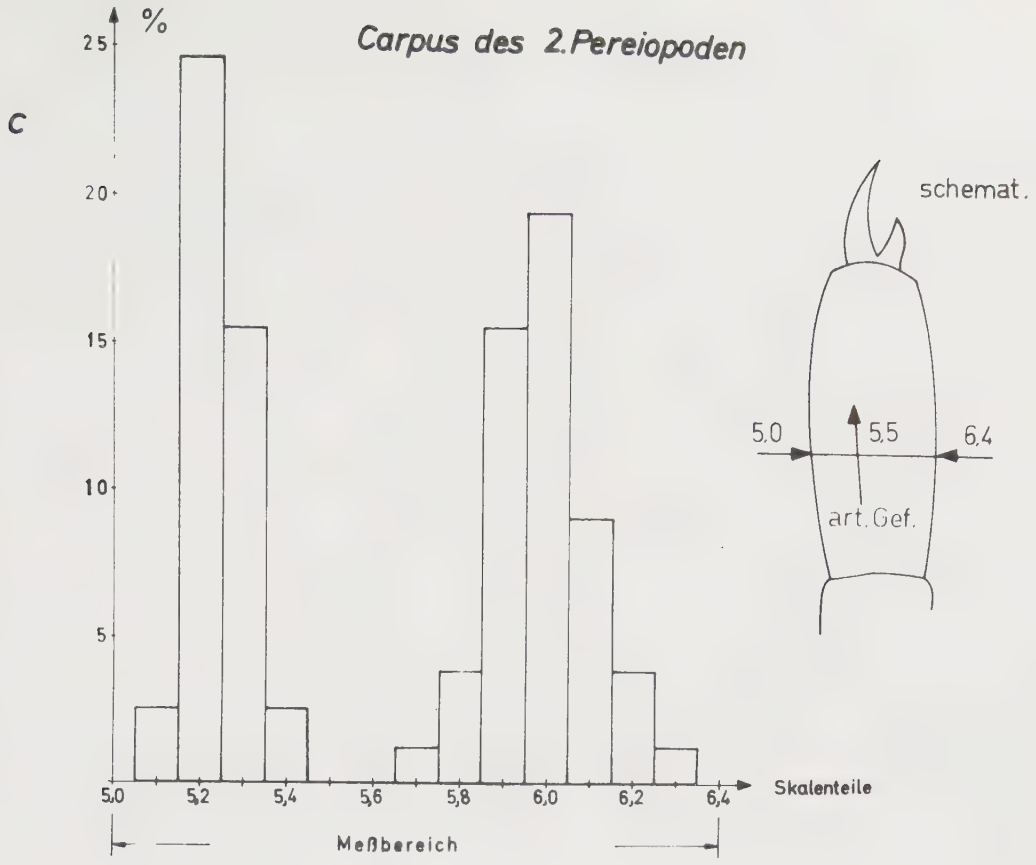
Durchgangshäufigkeiten von Hämolymphzellen durch Querschnitte von Extremitätengliedern (a - d) und der ventralen Lakune des Pleon bei verschiedenen Strömungsgeschwindigkeiten (e - f).

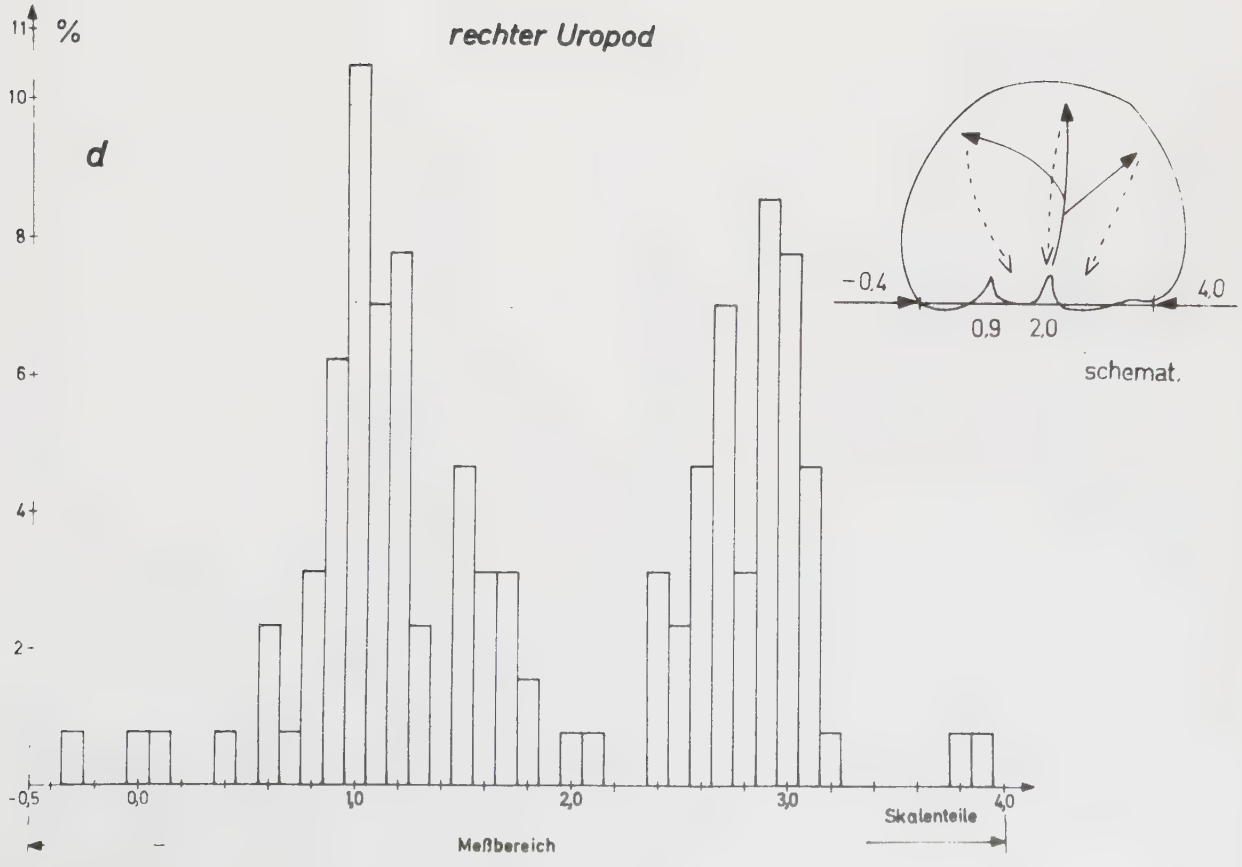
a

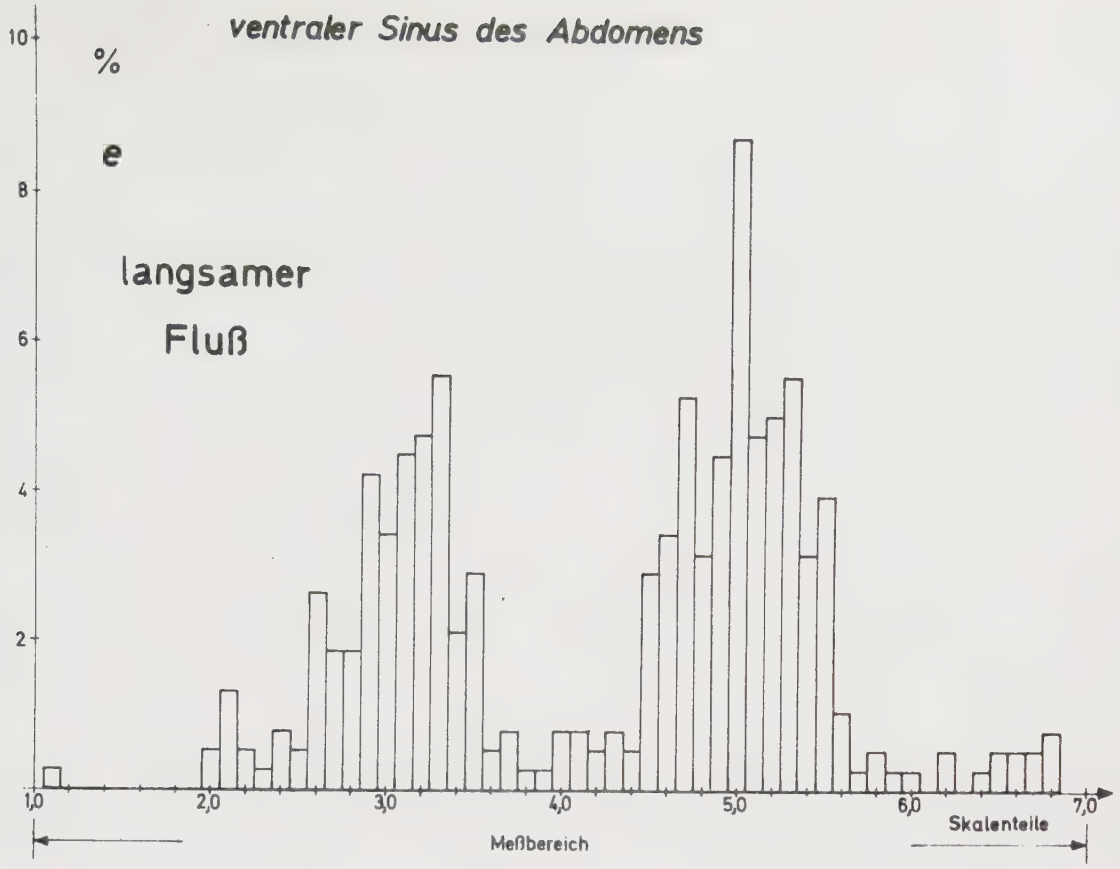

Basis der 1.Antenne
%
25
20
15
10
5
3,0
3,2
3,4
3,6
3,8
4,0
4,2
4,4
4,6
Skalenteile
Meßbereich
schemat.
3.0
4.5
arter. Gef.

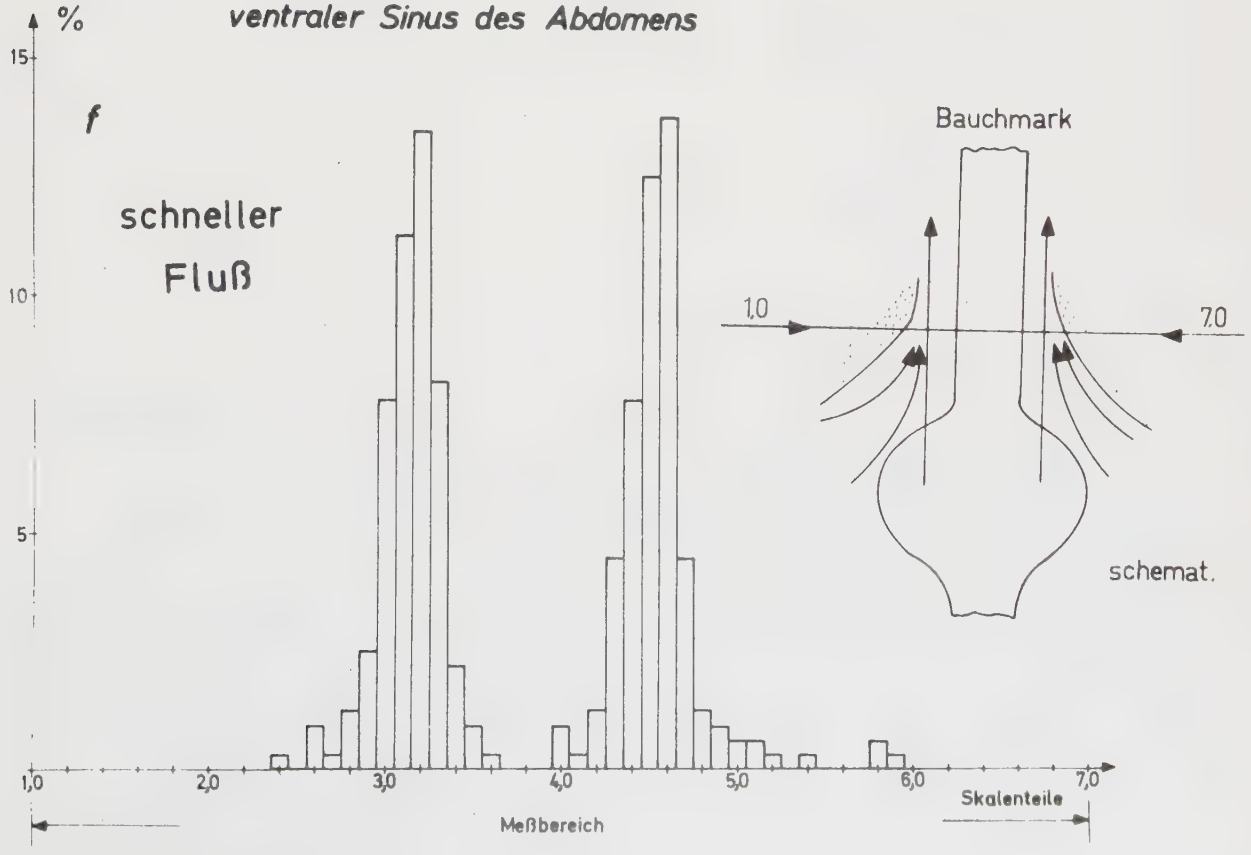
b


Merus des vorletzten
Pereiopoden
%
25
20
15
10
5
3,0
3,2
3,4
3,6
3,8
4,0
4,2
4,4
Skalenteile
Meßbereich
schemat.
art. Gef.
3.0
4.5
3.7
Muskel


c
Carpus des 2. Pereiopoden
%
25
20
15
10
5
5,0
5,2
5,4
5,6
5,8
6,0
6,2
6,4
Skalenteile
Meßbereich
schemat.
5,0
5,5
6,4
art. Gef.


d
rechter Uropod
%
11
10
8
6
4
2
-0,5
0,0
1,0
2,0
3,0
4,0
Skalenteile
Meßbereich
-0,4
4,0
0,9
2,0
schemat.


ventraler Sinus des Abdomens
%
e
langsamer
Fluß
10
8
6
4
2
1,0
2,0
3,0
4,0
5,0
6,0
7,0
Skalenteile
Meßbereich


ventraler Sinus des Abdomens
%
f
schneller
Fluß
15
10
5
Bauchmark
1.0
7.0
schemat.
1,0
2,0
3,0
4,0
5,0
6,0
7,0
Skalenteile
Meßbereich

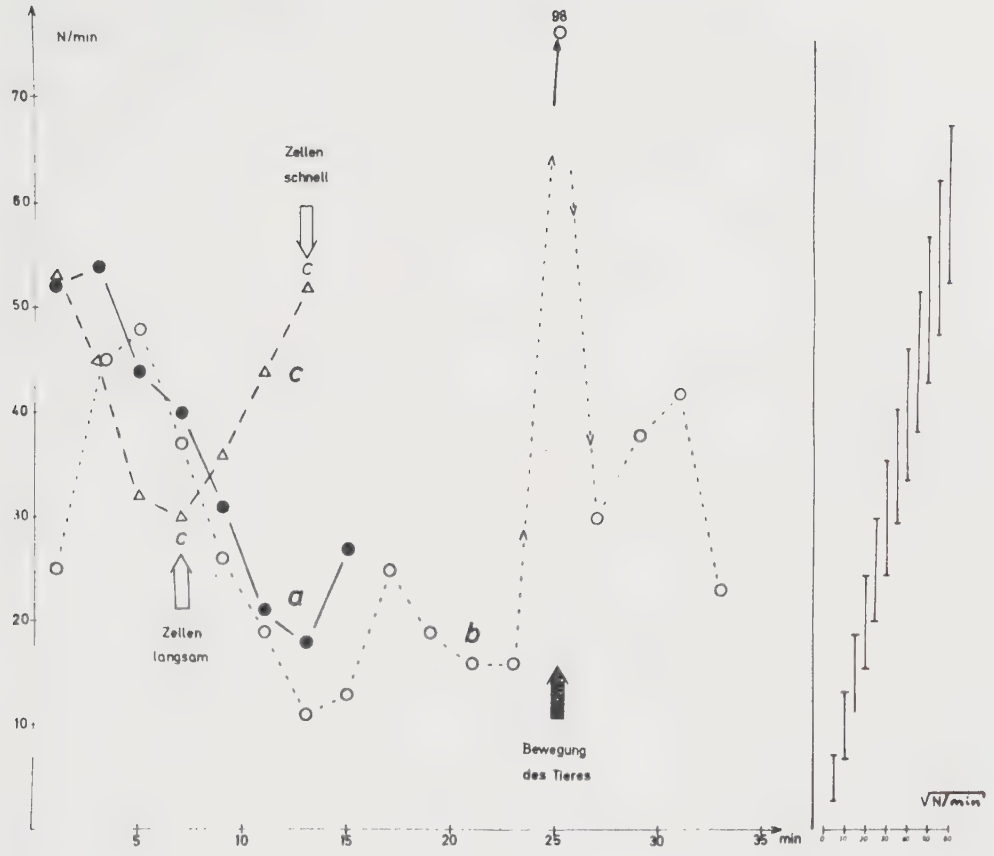


Abbildung 2:

Drei Beobachtungsreihen (a bis c) des Einstroms von Hämolymphzellen pro Zeiteinheit (N/min) in Extremitäten.

Die theoretische Streuung ($\sqrt{N/min}$) wird am rechten Rande der Abbildung angegeben. Die Abweichungen in Kurve c könnten als zufällig angesehen werden, wären nicht zugleich Unterschiede in der Strömungsgeschwindigkeit beobachtet worden.

3.2.4 Diskussion

Nach den gängigen Ansichten ist der Weg der Hämolymphe in offenen Kreislaufsystemen wenig beständig. Der willkürlichen Muskelbewegung wird ein so wesentlicher Einfluß eingeräumt, daß der Hämolymphumlauf als zufällig erscheinen muß. Zu solcher Ansicht mögen Tatsachen, wie die Umkehr der Herzperistaltik bei Insekten, beitragen. Gegenbeispiel können die Salpen sein, bei denen eine physiologische Umkehr des Herzschlages vorliegt, aber dennoch die Hämolymphe eine streng geordnete Strömung aufweist.Bei den Dekapoden ist eine Umkehr nicht möglich. BURGER und SMYTHE [1953] am Hummer und GEORGE, REUBEN und MUTHE [1954] an Panulirus polyphagus weisen auf die Klappen an den Gefäßabzweigungen vom Herzen hin und beschreiben das Druckgefälle von Ventrikel, Gefäßen, Lakunen zum Perikard hin. Die Ansicht einer geordneten Zirkulation bei Ranatra und Palaemon vertritt LEONTOWITSCH [1911] nach Beobachtungen von injizierten Säugererythrocyten. Selbst bei "niederen" Krebsen halten die Hämolymphströme bestimmte Bahnen ein (SAALFELD [1936]: Leptodora hyalina, HEROUARD [1905]: Daphnia). Die Verbreitung des Röntgenkontrastmittels beim Flußkrebs bestätigte den Umlauf auf festen, nach den Zellzählungen konstanten Bahnen. Dabei wurde keine bevorzugte Verbindung zwischen einzelnen Organen gefunden. Die Hämolymphzellen fließen in breitem laminaren Strom aus den Geweben zum Herzen zurück. Er ist nur durch die Gewebe und den Außenpanzer begrenzt. Auch BURGER und SMYTHE [1953] schildern diesen Rückstrom beim Hummer als laminar.

Wie aber soll man sich bei laminarem Fluß eine ausreichende Durchmischung vorstellen? MARSCHALL [1966] beschreibt für Tenebrio mollitor Wirbelbildungen beim Hämolymphfluß in den kleineren Gewebslücken; beim Flußkrebs wurden diese Vorgänge bisher nicht untersucht. Das Verschwinden des Röntgenkontrastes nach dem Durchgang durch das Herz machte deutlich,

daß jedenfalls hier eine starke Durchmischung der Hämolymphe stattfindet. An beliebiger Stelle in den Flußkrebs injizierter Tracer erreichte alle Kiemen, die "Venen" und das Perikard. Hier werden die einzelnen Hämolymphströme gesammelt und vermischt. Vom Herzen aus werden sie dann überall hin verteilt. DUBUISSON [1928] hat für Hyale eine Korrelation von Herzschlag und Bein-, bzw. Schwimmbewegungen nachgewiesen. Er nimmt eine nervöse Koordination an, die er durch extreme Temperaturen stören konnte. Ein ursächlicher Zusammenhang der Art, daß eine stärkere Zirkulation das Ergebnis von Muskelbewegungen sei, liegt bei den Crustaceen offenbar nicht vor. Er wäre in einem schachtelartigen Tier auch schwer vorstellbar. Die Blutzellen ruckten zwar bei Bewegung einer Extremität hin und her, veränderten aber nicht ihre relative Lage.

Daß ein Tracer längere Zeit in der ventralen Lakune des Pleon verweilen konnte, fügt sich nicht in das Bild einer schnellen, geordneten Durchströmung ein. Dies wurde als Störung angesehen, eine Luftblase an dieser Stelle unterbricht ebenfalls den Fluß der Hämolymphe. Vielleicht wird der ventrale Teil des Pleon weniger gut versorgt. Bei Palaemonetes vulgaris (BRODY und PERKINS [1930]) fehlt die entsprechende arterielle Versorgung (ventrale Abdominalarterie).

3.3 Durchmischungszeit

3.3.1 Allgemeines

Da sich in den breiten Strömungsbahnen der Hämolymphe achsen- und wandständige Teile unterschiedlich schnell bewegen (S. 37), wird man keine definierten Durchgänge eines Tracers durch ein Meßgebiet im Tier nach Injektion an anderen Stellen des Körpers erwarten können. Der Tracer benötigt einige Sekunden, ehe er den Beobachtungsort von der Eingabestelle aus in den schnellsten Stromfäden erreicht.Diese Zeit wird Durchgangszeit genannt. Sie sagt noch nichts darüber aus, wann sich der Tracer vollständig im beobachteten Gebiet des Körpers verteilt hat. Auf sie wurde in den Versuchen nur beiläufig geachtet. Hat sich der Tracer vollständig im Hämocoel verteilt, so wird man an der Meßstelle eine konstante Konzentration finden. Die Zeit von der Injektion bis zum Erreichen dieses Plateaus wird als Durchmischungszeit bezeichnet. Da die Konstanz asymptotisch erreicht wird, ist diese Zeit nicht exakt anzugeben. Andererseits erfaßt gerade sie den Zeitpunkt, in dem sich ein in die Hämolymphe eingebrachter Tracer vollständig verteilt hat. Dies interessiert in Stoffwechseluntersuchungen.

Den Versuchen wird eine Abschätzung der Leistungsfähigkeit des Herzens vorangestellt. Die Durchmischungszeit wurde mit Hilfe von Verdünnungsanalyse und gammastrahlenden Isotopen bestimmt. Nach möglichst rascher Injektion des Tracers in das Hämocoel an einer Stelle des Tierkörpers (Injektionsort) wurde die zeitliche Veränderung der Gamma-Aktivität an einer zweiten Stelle (Beobachtungsort) gemessen. Mehr Information über die räumliche und zeitliche Verteilung des Tracers liefert die Messung an mehreren Beobachtungsorten, die in raschem zeitlichen Wechsel (Schnellscanner) oder simultan (Szintillationskamera) erfolgen kann. Die Ausbeute an Gamma-Strahlung ist von der Meßgeometrie abhängig. Daher mußten die Tiere zu diesen Versuchen festgelegt werden. Abb. 2,S.42,

demonstriert, daß sich dabei der Kreislauf des Versuchstieres verlangsamt. Nach Seite 33 ff. gibt es keine markanten Unterschiede in der Durchströmung einzelner Gebiete, der Hämolymphfluß eines ruhenden Tieres kann als minimal angesehen werden.

3.3.2 Material und Methoden

Für Aufnahmen der Verteilung von Gammastrahlern mit der Szintillationskamera war der Flußkrebs Orconectes limosus zu klein. Es konnte aber gezeigt werden, daß der Hummer Homarus gammarus L. in den äußeren Abmessungen Carapaxlänge und -breite, Gesamtkörperlänge, Breite der Pleonsegmente und Länge der Extremitäten mit ± 4 % mittlerer Abweichung diesem geometrisch ähnlich ist. Die Ergebnisse der Verteilungsbeobachtungen wurden vom Hummer auf den Flußkrebs übertragen. Die Tiere wurden von der Firma Essmann, Hamburg, bezogen und nach dem Transport an der Luft in künstliches Seewasser gesetzt.

Zur Messung der Herzfrequenz darf man das Perikard nicht öffnen. Nach HOFFMANN [1913] ist die Tätigkeit des Flußkrebs-Herzens vom Füllungszustand abhängig, ähnlich wie bei den Mollusken (SKRAMLIK [1929]). Es wurde vorsichtig eine höchstens 2 mm große Öffnung in das Exoskelett gebohrt. Der Herzschlag wurde durch das Vibrieren des Gewebes nahe der Ansatzstelle eines der dorsalen Ligamente beobachtet. Eine seitliche Lampe mit Wärmefilter erzeugte an Unebenheiten halbmondförmige Reflexe, deren Zipfel sich bei jeder Herzbewegung verengten. Da die Beobachtung nur mit dem Binokular möglich war, mußte das Tier mit Isolierband an einem Brettchen festgelegt und außerhalb des Wassers vermessen werden. Schon MAYNARD [1960b] bei Panulirus und BAYER [1968] bei Locusta fanden einen unterschiedlichen Gang der Herzfrequenz während der Messung. Hier wurde die Zeit für jeweils 20 Schläge mit der Stoppuhr bestimmt und die ersten beiden Zählungen ausgewertet. Die Tiere konnten sich jeweils einen halben Tag an die neue Temperatur zwischen 27,5 °C und 2 °C fallend und dann auf 30 °C zunehmend adaptieren. Ein Ultrathermostat

hielt die Temperatur auf ± 0,1 ° konstant. Frühere Untersuchungen, die in der Diskussion dieser Ergebnisse besprochen werden, gaben den Tieren nur einige Minuten, sich auf die neuen Bedingungen einzustellen.

Die Methodik der V e r d ü n n u n g s a n a l y s e ist bereits ausführlich beschrieben worden. Wie zur Bestimmung des Hämolymphraumes wurde die C-14-carboxy-Inulin-und T-methoxy-Inulin-Verdünnungskurve kurz nach der Injektion verfolgt. Es wurde auch versucht, den Konzentrationsverlauf an einer Stelle des Versuchstieres zu messen. Durch Löcher im Exoskelett wurde aus dem Perikard und aus der Schere wiederholt Flüssigkeit entnommen, nachdem 50 µl C-14-carboxy-Inulin-Lösung injiziert worden waren. Die gewonnenen Mengen von 2 - 8 µl Hämolymphe pro Messung wurden direkt in den Glaspipetten gewogen. Es war aber nicht unbegrenzt Flüssigkeit zu erhalten. Nach Entnahme von etwa 45 µl aus der Schere und 65 µl aus dem Perikard konnte kaum noch Hämolymphe aufgesogen werden. Die Pipetten wurden in 1 ml Wasser ausgespült, das Protein durch 0,5 ml 14 % Perchlorsäure gefällt und 1 ml des alkalisch gemachten Überstandes in Szintillatorlösung gebracht.

Daß nur eine begrenzte Menge Flüssigkeit an einer Stelle des Organismus gewonnen werden konnte, wurde auf eine Störung der Hämolymphströmung zurückgeführt. Deshalb ist versucht worden, die Zirkulation von außen ohne weitere Eingriffe nach der Injektion zu verfolgen. Injiziert man einen G a m m a - s t r a h l e r , der Quanten sehr hoher Energie aussendet, so ist die Abschirmung eng benachbarter Punkte kaum noch möglich. Die wirbellosen Tiere allgemein und selbst der Hummer sind nicht groß. Wird ein "weicher" Gammastrahler verwendet, so kann ein Aktivitätsmuster durch eine an das Objekt herangebrachte Loch- oder Gitterblende auf einem unmittelbar dahinter liegenden Detektor parallel abgebildet werden. Die Dicke der Lamellen zwischen den Öffnungen dieses Kollimators begrenzt

die Trennschärfe. Auch kann die gesamte Blende nicht beliebig dick sein, weil die Ausbeute mit der Dicke abnimmt. Da der radioaktive Zerfall ein statistischer Vorgang ist, verschlechtert sich das Ergebnis. Die Kollimatoren werden immer weiter verbessert. Es gelang, sie so einzurichten, daß auf bestimmte Ebenen oder Punkte fokussiert werden kann. Die Methoden können leistungsfähiger sein, als es aus dieser Arbeit hervorgeht. Doch soll hier nur generell die Anwendbarkeit der Gammaabbildungen erprobt werden. Da nachgewiesen worden war, daß das Hämocoel im ganzen durchströmt wird, reichte eine geringere räumliche Auflösung aus. Es wurden eine Lochblende oder die kommerziellen Kollimatoren verwendet. Die räumliche Ausblendung muß noch durch die elektronische Verarbeitung der Impulse aus dem Detektor unterstützt werden. Die vom Ursprungsort ausgehenden Gammaquanten werden in großer Zahl an der Materie des Versuchsobjektes oder der Blende gestreut. So entsteht eine neue Strahlenquelle. Das von den primären Ausgangsorten gewonnene Bild wird überstrahlt. Es sieht so aus, als sei eine punktförmige Strahlenquelle von einem Hof umgeben. Nun haben aber die gestreuten Quanten eine geringere Energie. Mißt man mit einem NaJ(Tl)-Szintillationskristall und einem Photovervielfacher der Energie der Gammaquanten entsprechende Impulse, so kann die Streuung elektronisch ausgesondert werden. Es werden die kleinen Impulse, die von den niederenergetischen Quanten erzeugt wurden, durch eine Diskriminatorschwelle zurückgewiesen. Man wird aber nicht nur einen Gammastrahler schwächerer Energie verwenden, sondern auch einen solchen mit nur einer Emissionsbande. Sonst kann zwischen einer niederen Gammaemissionsenergie und der Streustrahlung von einem Gipfel höherer Frequenz nicht unterschieden werden. Wenn auch Technetium-99m zwei solche Emissionsgipfel hat, so liegen diese doch dicht nebeneinander. Außerdem ist es leicht darzustellen. Es ist eines der kurzlebigen, praktisch trägerfrei isolierbaren Isotope, die noch einige Zeit nach der Reaktoraktivierung einer Substanz vom entstehenden Mutternuklid abgetrennt

werden können (WAGNER [1966], STANG und RICHARDS [1964]). Sie haben sich in der klinischen Praxis bewährt, da die Strahlenbelastung durch kurzlebige Gammastrahler gering ist. Es lag nahe, diese technischen Möglichkeiten für tierphysiologische Untersuchungen auszunutzen.

Das Technetium wurde nach REICHHOLD und WOLF [1967] in schon beschriebener Weise selbst dargestellt oder aus einem Generator des Kernzentrums Amersham (MCC. 2) mit physiologischer Lösung nach HARREVELD [1936] eluiert. Für die Beobachtung mit dem Schnellscanner wurde ein Technetium-Protein-Komplex benutzt, dessen Darstellung ebenfalls auf Seite 10 geschildert worden ist. Die Dosis lag allgemein zwischen 1 bis 0,05 mC pro Tier.

Im einfachsten Falle wird man für einen Bereich des mit Isolierbändern festgelegten Tieres, z. B. die Schere, die Zunahme der Aktivität nach Injektion radioaktiver Lösung an anderer Stelle verfolgen. 50 - 100 µl Tc-99m-Lösung wurden gegeben. Der mit Blei abgeschirmte Detektor wurde lose auf den interessierenden Körperteil aufgesetzt. Gemessen wurde die Strahlung, die eine 0,5 bis 0,7 cm breite kreisförmige Öffnung passierte. Das Tier ist noch einmal mit Bleiblech abgedeckt worden. Die Spritze mit der zu injizierenden Aktivität wurde hinter einem Bleiziegel verborgen. Verfolgt man die Zunahme der Aktivität, so muß man beachten, daß radioaktiver Zerfall ein Zufallsprozeß ist. Es muß also über die Zeit gemittelt werden. Analoge Ratemeter haben eine bestimmte Trägheit. Um solchen apparativen Einflüssen zu entgehen, empfehlen AWWAD und POTCHEN [1966], HARRIS [1966], u. a. eine digitale Registrierung der Impulsrate. Ein Strahlenmeßplatz der Firma Berthold, Wildbad, enthielt Hochspannungseinheit, Szintillationsdetektor, Linearverstärker mit Inverter und Diskriminatorschwellen. Als digitales Ratemeter wurde ein Hundertkanalanalysator der Firma Technical Measurement Corp., New Haven, in "multiscaler mode" betrieben. Im allgemeinen wurden

jeweils 1 Sekunde lang die Impulse in einem Kanal nach dem anderen gespeichert. Der Durchlauf der Aktivität an einer Meßstelle konnte so über 100 Sekunden verfolgt werden. Die gespeicherten Ergebnisse wurden über einen XY-Schreiber analog oder einen Drucker digital (Firma Walter) ausgegeben. Der Ausdruck bedingte eine Meßpause von rund 150 Sekunden. Daher wäre ein System von zwei Zähleinheiten zu empfehlen, bei dem ein Meßteil zählt, während der andere abgelesen wird. Verbesserungsbedürftig ist die Injektionstechnik. Nach OLDENDORF [1966] muß selbst bei schnellster, handgetriebener Injektion mit einer Verschiebung des Maximums der Durchströmungskurven gerechnet werden. Bei einfacher "rascher" Einspritzung war das Maximum auf 20 Sekunden gegenüber 16 Sekunden bei mechanischer Eingabe verschoben.

In Erweiterung dieser Aktivitätsmessung an nur einer Stelle fährt beim Scanner ein Detektor die interessierende Fläche ab. Die Geschwindigkeit des Meßkopfes ist meist gering, um genügend Impulse in einer Flächeneinheit zu zählen. Um dem abzuhelfen, hat die Firma Picker Nuclear zehn Detektoren im Abstand von 2,5 cm in einem Schnellscanner zusammengefaßt. Dieser mit einstellbarer Geschwindigkeit ein Objekt abfahrende Detektorenkopf wird mit einem Kollimator fokussiert. Für Technetium-99m kann eine besonders gute Auflösung erreicht werden. Der entsprechend engrastrige Kollimator ist auf einen Abstand des Objektes von 8 cm eingestellt. Die Geschwindigkeit des Meßkopfes betrug 10 Sekunden für einen Gang über das Tier, das sechzehn Mal mäanderförmig abgefahren wurde. Die Aktivitätsverteilung wurde sofort analog, ortsgetreu auf einem Speicheroszillographen sichtbar gemacht und auf einem Magnetband festgehalten. Davon wurden dann die Aktivitätsmuster von Beginn der Injektion bis zum jeweils interessierenden Zeitpunkt auf einem weiteren Oszillographenschirm abgerufen und dieses Analog-Bild mit einer Polaroid-Kamera aufgenommen. Die Einstellung der Hochspannung und Schwellen entsprach der klinischen

Routine. Geeicht wurde mit Hilfe der injektionsbereiten Spritze. Es wurde nach einem Vorversuch nur die Verteilung von Technetium-Protein in zwei Tieren gemessen. Dabei zeigte sich bereits die begrenzte Leistungsfähigkeit des Verfahrens bei dem ja nur etwa 10 cm langem Flußkrebs. Die Darstellung der Injektionsspritze demonstriert die Trennschärfe. Diese war nicht der kritische Punkt. Schlecht war vielmehr, daß bei so raschen Vorgängen auf engem Raum das Gesamtbild des Tieres zugleich räumliche und zeitliche Informationen enthielt.

Bei solchen Objekten scheint die Szintillationskamera nicht nur wegen ihrer Auflösung, sondern vor allem wegen der gleichzeitigen Beobachtung einer größeren Fläche überlegen zu sein. Von den fünf Typen (LORENZ [1967]) durchaus unterschiedlicher Art wurde die Angerkamera erprobt. Nach LORENZ und SCHEER [1967] beträgt die Auflösung bei 200 keV 0,8 cm. Diese hängt natürlich von der Rasterblende (Kollimator) ab. Ein hinter ihr liegender, großer NaJ(Tl)-Kristall wird von einem Photovervielfacher-Mosaik betrachtet. Dessen Ausgänge sind in einem Widerstandsnetz so geschaltet, daß absolute Höhe des Impulses zur Analyse des Streuanteils und der X,Y-Koordinaten in analoger Form erhalten werden. (ANGER [1964]). Dem Detektor schließen sich Diskriminator und Zähler an. Entweder wurde eine bestimmte Anzahl von Impulsen (15.000) oder eine bestimmte Zeit lang beobachtet. Während der Injektion von 0,5 ml Pertechnetat in physiologischer Lösung nach HARREVELD [1936] in den mit Bindfäden an einer Lochplatte lose fixierten Hummer wurde der Meßvorgang gestartet. Die Messung entsprach klinischer Routine, geeicht wurde das Gerät mit der zu injizierenden Aktivität. Es sind entweder photographische Aufnahmen gemacht worden, in denen die Helligkeit der Aktivität analog ortsgetreu dargestellt wird, oder es wurde der zeitliche Ablauf auf Ampex-Magnetband aufgezeichnet. Die Auswertung der Magnetbänder erfolgte im Krebsforschungszentrum Heidelberg. Bei der digitalen

Auswertung wurde dem räumlichen Aktivitätsmuster ein Zahlenmuster von 0 bis 9 zugeordnet. In ihm konnten zehn Flächen ausgesucht werden, deren Aktivität in bestimmten zeitlichen Intervallen gezählt oder wie hier jeweils zu den vorher ermittelten Impulsen addiert wurde. So gelang es, Durchflußkurven verschiedener Bereiche des Körpers zu erhalten. Besonders war zu prüfen, ob das Pleon langsamer als der übrige Körper durchströmt wird.

3.3.3 Ergebnisse

3.3.3.1 Abschätzung des Herzminuten-Volumens

Zunächst fiel der große Anteil des hämolympfreien Herzens an der Körpermasse auf: 0,17 % bei männlichen und 0,14 % bei weiblichen Tieren. Diese Werte liegen in der Größenordnung der relativen Herzgewichte der niederen Wirbeltiere (HESSE [1921]): Teleostier 0,03 - 0,2 %, Selachier 0,08 - 0,13 %, Amphibien 0,13 - 0,4 % und Reptilien 0,1 - 0,3 % gegenüber Vögeln 0,5 - 1,8 % und Säugern 0,27 - 1,0 %. SCHWARTZKOPFF [1953 b] fand bei Helix 0,12 %. MALUF [1941] wog bei Cambarus clarkii 0,26 % und konnte keine Größenabhängigkeit nachweisen. Ebenso wurde für Orconectes limosus keine Änderung des Herzanteils mit der Masse des Versuchstieres gefunden. MAYNARD [1960 b] beschreibt einen nichtlinearen Zusammenhang zwischen Herz- und Körpermasse bei Panulirus argus. Die Massen der von ihm ausgemessenen Tiere umfaßten mehrere Zehnerpotenzen.

Auf der Röntgenabbildung ist das Herz zwei Drittel so breit wie der Carapax samt Kiemenhöhle. Als Quader aus Seiten- und Grundriß nähme es 2 % der Körpermasse ein (Dichte: 1,0). Nach den Aufnahmen verschiedener Bewegungsstadien sollte sich das Volumen bei der Systole um mindestens 30 %

verringern. Ein Schlagvolumen von 0,25 % der Körpermasse scheint nicht zu hoch gegriffen zu sein. Für das Perikard ergab sich nach den gleichen Aufnahmen aus Abbildungen von oben und von der Seite ein Volumen von 5 % der Körpermasse. Unter Abzug des Herzens und nach Berücksichtigung seiner unregelmäßigen Form umfaßt es etwa 2,5 % der Körpermasse und könnte damit 10 % der Hämolymphmenge speichern. Die Herzschlagfrequenz ist temperaturabhängig. Dabei wurden recht verschiedene Formen der Abhängigkeit der Schlagfrequenz von der Temperatur gefunden (MANGOLD [1926], POTONIE [1926], SCHWARTZKOPFF [1955]). Diese Unterschiede haben wohl hauptsächlich methodische Ursachen. POTONIE [1926] zum Beispiel erhitzte das Wasser, in dem das Versuchstier saß, mit einem Bunsenbrenner. Das Ergebnis war von der Versuchsdauer abhängig. Deshalb wurden eigene Versuche durchgeführt. Ein linearer Zusammenhang zwischen Temperatur und Herzfrequenz reichte zur Beschreibung aus ($P < 0,01$). Die Individuen unterschieden sich stark. Für ein 20 g schweres Tier bei 20 °C wurde eine Herzfrequenz von 107 min^{-1} extrapoliert. Bei einem Schlagvolumen von 0,25 % der Körpermasse könnte die gesamte Hämolymphe das Herz einmal pro Minute passieren. BURGER und SMYTHE [1953] haben das vom Hummer-Herzen nach hinten ausgestoßene Blut aufgefangen. Mindestens 15 bis 30 % der Hämolymphe werden danach pro Minute vom Herzen aus verteilt. Für andere Vertreter offener Kreisläufe liegen kaum Ergebnisse vor. Nach BAYER [1968] kann man bei *Locusta* mit einem Herzausstoß von 20 % der gesamten Hämolymphmenge in der Minute rechnen, bei *Helix* nach SCHWARTZKOPFF [1954] mit 10 bis nahezu 20 %. Für die letzte Abschätzung wurde nach MARTIN und Mitarbeitern [1958] ein Hämolymphraum von 40 % der Körpermasse angenommen.

3.3.3.2 Verdünnungsanalyse

C-14-carboxy-Inulin wurde in das Perikard von 3 Tieren, Tritium-methoxy-Inulin in das von 6 und später 2 injiziert. Aus den verschiedenen Beingelenken wurden mehrfach Hämolymphproben entnommen und ihre Radioaktivität bestimmt. Das arithmetische Mittel für alle Werte eines jeden Versuchstieres wurde gleich 100 gesetzt, die Prozentwerte für jeden Zeitpunkt errechnet und innerhalb einer Versuchsgruppe gemittelt. Die Streuungen waren so gering, daß ein Vortäuschen der Konstanz durch Addition zufällig streuender Werte ausgeschlossen werden konnte. Für die Gruppe der zwei Versuchstiere wurde mit der Spannweite gerechnet (PFANZAGL[1966]). Gleichverteilung ergab sich für C-14-carboxy-Inulin schon nach 5 Minuten (Abb. 3 a, S. 55), für Tritium-methoxy-Inulin erst nach 10 bzw. 20 Minuten (Abb. 3 b). Ob sich diese Differenz aus der Art zu injizieren oder unterschiedlicher Bewegungsaktivität der Tiere ergab, war nicht festzustellen.

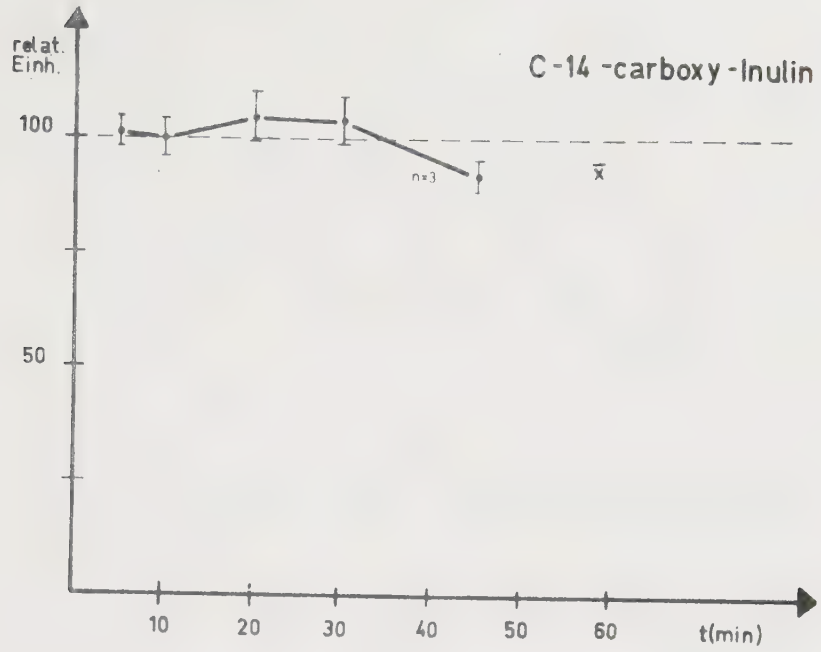
C-14-carboxy-Inulin wurde einem Flußkrebs ins Perikard injiziert und möglichst schnell Hämolymphe zuerst aus der linken Schere und dann aus dem Perikard entnommen. Daß an beiden Orten nicht unbegrenzt Hämolymphe gewonnen werden konnte, spricht für eine Störung des Hämolymphflusses durch den Eingriff. Der Tracer erreichte bereits bei der ersten Entnahme in der Schere 5 Sekunden nach Injektion eine hohe Konzentration, die Durchgangszeit vom Perikard zur Schere beträgt also weniger als 5 Sekunden. Nach spätestens einer Minute ist die maximale Aktivität in der Schere erreicht Abb. 4 a, S. 57). Im Perikard nimmt die Aktivität über einen Zeitraum von mindestens 15 Minuten langsam ab.

An einer fehlerhaften Lötstelle im Zähler des Szintillationsspektrometers scheiterte der Versuch, die zeitliche Verteilung von injiziertem Tritium-methoxy-Inulins in den Organen zu verfolgen. Lediglich in den Extremitäten wurde sie nach 5, 15, 30 45 und 60 Minuten bestimmt. Es wurde keine Abhängigkeit der Aktivität pro Gramm von der Zeit nach Injektion gefunden;

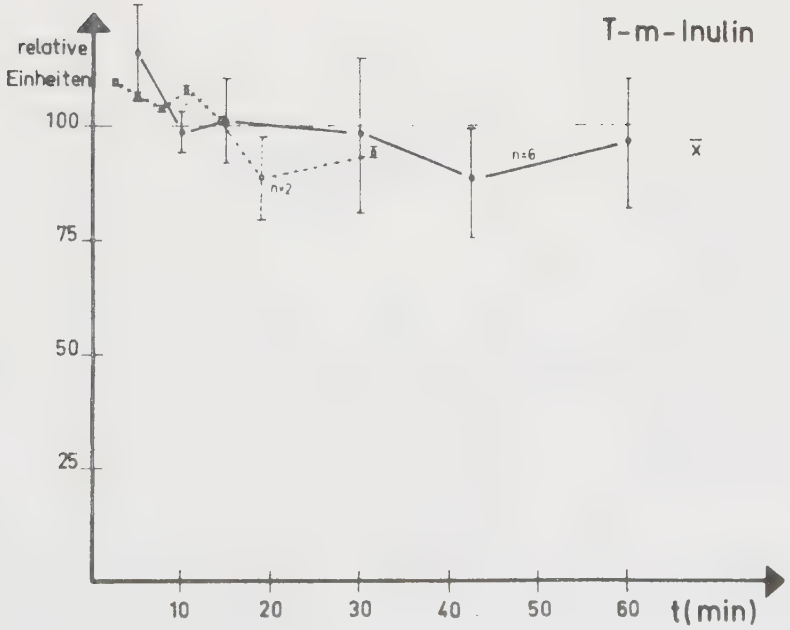
Abbildung 3 a, b:

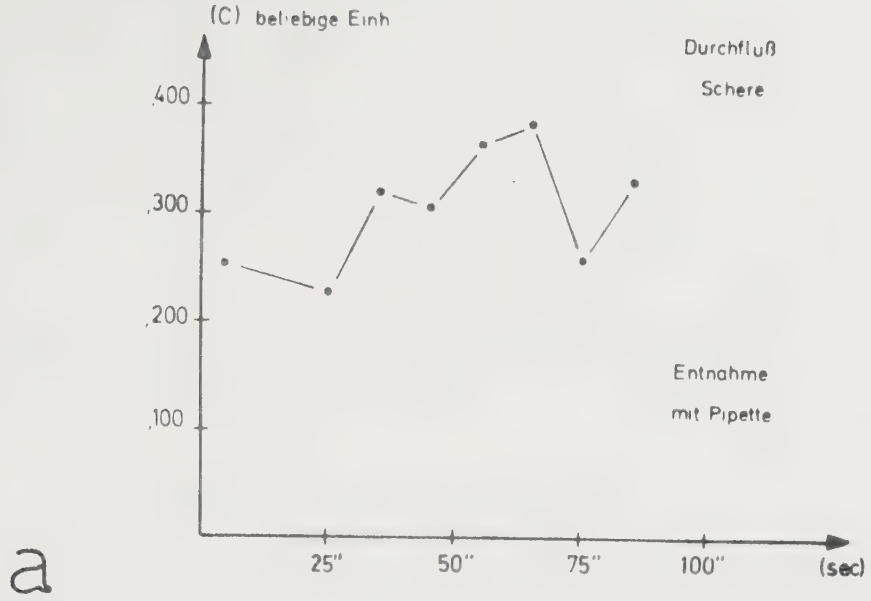
Verdünnungskurven über 60 Minuten nach Injektion von C-14-carboxy-Inulin und Tritium-methoxy-Inulin ins Perikard. Proben aus den Beingelenken. Mittelwert jedes Tieres als 100 gesetzt. Werte innerhalb einer Gruppe für jeden Zeitpunkt gemittelt. Balken bedeuten Standardabweichung.
n = Zahl der Versuchstiere. (a) C-14-carboxy-Inulin
(b) T-methoxy-Inulin

a

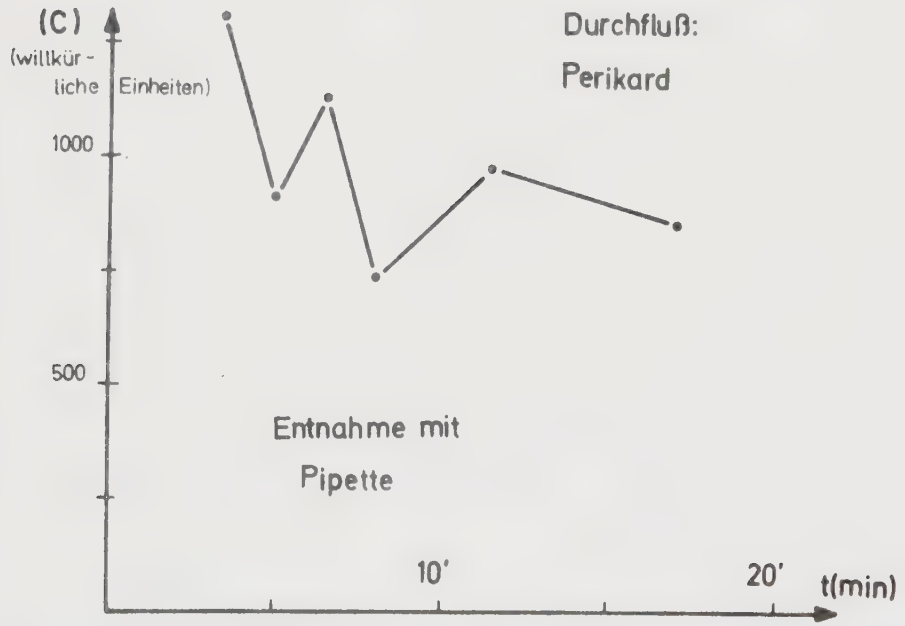

relat.
Einh.
C-14 -carboxy-Inulin
100
50
n=3
x̄
10
20
30
40
50
60
t(min)

b


relative
Einheiten
T-m-Inulin
100
75
50
25
n=6
n=2
x̄
10
20
30
40
50
60
t(min)



a



b

Abbildung 4 a, b:

Verdünnungskurve in Schere (a) und Perikard (b) nach Injektion von C-14-carboxy-Inulin ins Perikard bzw. Herz.

spätestens nach 5 Minuten ist die Hämolymphe der Gliedmaßen vollständig durchmischt. Der Anteil der extrazellulären Flüssigkeit an der Masse der Extremitäten betrug 30 ± 2,8 %. Da sie ein Drittel des Körpers einnehmen, befinden sich etwa 40 % der Hämolymphe in den Gliedmaßen.

3.3.3.3 Durchflußmessungen mit dem digitalen Ratemeter

Es konnte nur eine begrenzte Zahl von Versuchen durchgeführt werden, schon wegen der kurzen Halbwertszeit des Technetium-99m, Um den Detektor besser abschirmen zu können, wurden Umläufe zwischen möglichst weit entfernten Teilen des Tieres gemessen: vom Herzen zur Schere, von dieser zum Herzen oder zum Hinterkörper oder zur anderen Schere. Die Messungen wurden bei Zimmertemperatur an mit Isolierband festgelegten Tieren durchgeführt. Sie sind nur ein Hinweis darauf, was Berechnungen und Experimente zur Gammaoptik bringen könnten. Aus strahlenschutztechnischen Gründen war die Injektionsdosis begrenzt. Die gemessenen Werte streuten um ± 10 %. Eine einfache Auswertung wurde als ausreichend angesehen. Aus den Meßwerten nach einigen Minuten, die als konstant angesehen werden konnten, wurde die mittlere Impulsrate ($\bar{x}$) berechnet. Als Erreichen der Konstanz wurde gewertet, wenn 2 von 3 aufeinanderfolgenden Impulsraten im Bereich $\bar{x} \pm s$ lagen.

Die Ergebnisse zeigt Tabelle 4, S. 59. Die bei Wirbeltieren bekannte Form mit Maximumsgipfel, Abfall, Rezirkulation und Plateau wurde nicht beobachtet. Nur nach Injektion in die Schere erreichte die Aktivität im Herzen ein Maximum (20 Sekunden nach Injektion), dann sank die langsam. In den anderen Fällen stieg die Aktivität asymptotisch auf einen konstanten Wert. Nach Injektion in das Herz betrug die Durchmischungszeit etwa eine halbe Minute (Abb. 5, S. 60), nach

Tabelle 4: Messung der Tc-99m-Aktivitätszunahme nach Injektion in Schere und Herz (Pertechnetat in physiologischer Lösung).
Erreichen einer maximalen Konzentration an der Beobachtungsstelle.

Weg von - bis	Entfernung Injektionsort - Meßstelle (cm)	Zahl der Versuche	Zeit (sec) bis zur maximalen Aktivität
Herz - Schere	4,4 2,7	1 1	36 (Abb. 5) 33
Schere - Herz	2,8	1	20
Schere - Pleon (Mitte) Schere - Telson Schere - Schere (gegenüber)	- - -	4 2 6	zwischen 100 und 250 Sekunden (innerhalb der Totzeit)

Eingabe in die Schere im Pleon und der gegenüberliegenden Schere zwischen 100 und 250 Skunden. Leider lag der Zeitpunkt vollständiger Verteilung nach Injektion in die Schere innerhalb der Totzeit der Methode. Sollte der Tracer nicht am Injektionsort liegen bleiben, also nicht langsam in die Strömung abgegeben werden, so spricht die Form der Durchlaufskurve für eine gleichmäßige Durchströmung des Hämocoels.

Die Durchgangszeiten betrugen nur wenige Sekunden, wurden aber von der eingestellten zeitlichen Auflösung des Ratemeters nicht genauer erfaßt. Die schnellsten Stromfäden der Hämolymphe fließen mit Geschwindigkeiten in der Größenordnung cm/sec.

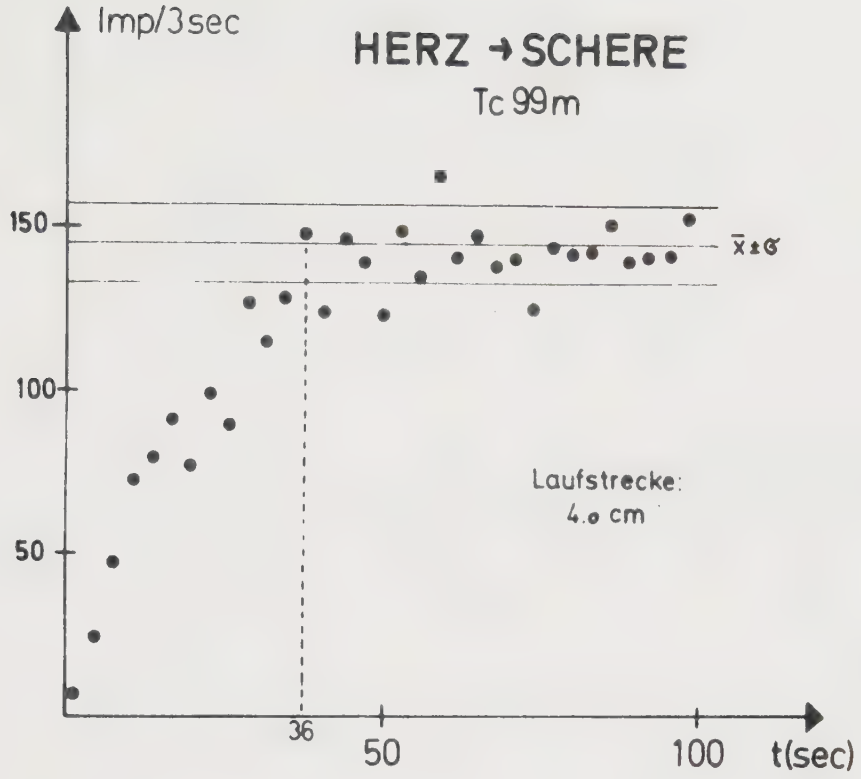


Abbildung 5:

Impulsraten in der Schere nach Injektion Tc-99m-Lösung (Pertechnetet) in das Herz.
Der Mittelwert $\bar{x}$ wurde aus Messungen der Aktivität nach 250 Sekunden gebildet. s ergibt sich aus der Statistik des Zerfalls. Die unterbrochene Linie deutet auf den Punkt, für den schon konstante Konzentration erwartet wird.

Versuchsanordnung: Szintillationskopf,
digitales Ratemeter

3.3.3.4 S c h n e l l s c a n n e r

Diese Methode gibt für so kleine Versuchstiere nur eine grobe Übersicht. Die maximale Aktivität nach Injektion in die Schere wurde für zwei Tiere abgeschätzt:

Herzgegend	unter 10 sec
gegenüberliegende Schere	40 - 60 sec
Rostrum	100 sec
hinteres Pleon	60 - 100 sec
vorderes Pleon	60 - 100 sec

Es entstand der Eindruck einer langsameren Durchströmung des Hinterkörpers. Doch sind hier leicht subjektive Fehler möglich.(Abb. 6, S. 62).

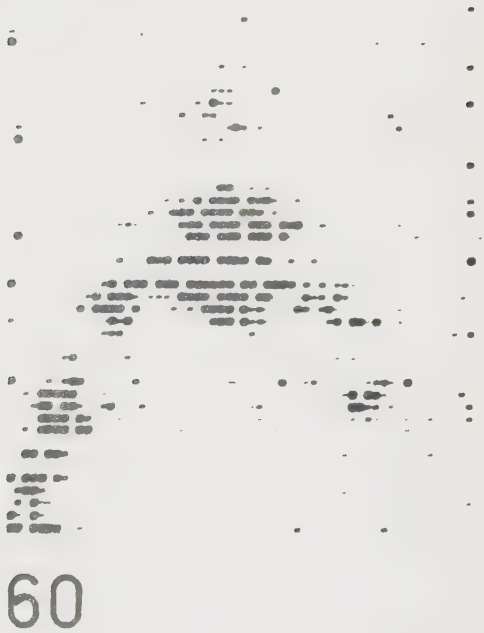
Abbildung 6:

Tc-99m-Protein-Verteilung nach Injektion in die rechte Schere. Der Schnellscanner "Dynapix" fährt das Objekt mäanderförmig ab und fügt dabei für jeden Detektor eine neue Zeile hinzu. Man erkennt den Abstand der Detektoren auf der ersten Abbildung.
Der Krebs liegt im Bild mit dem Kopf nach unten.
Links ist die Spritze zu sehen.

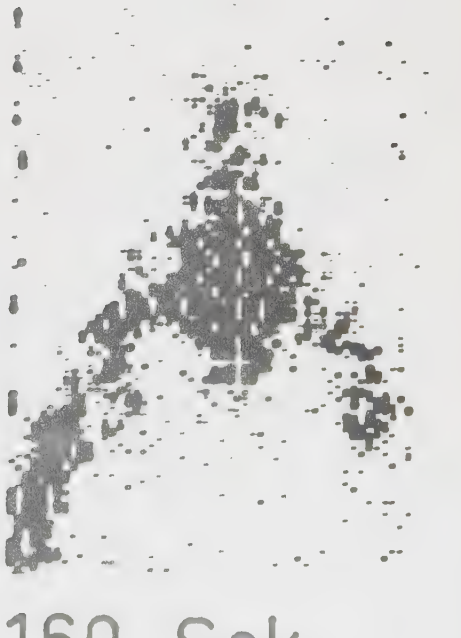
10

30

40


60

100


160 Sek.

3.3.3.5 S z i n t i l l a t i o n s k a m e r a

(Versuche am Hummer)

Die Verteilung der Tc-99m-Aktivität nach Injektion ins Perikard zeigt Abb. 7, S. 65. Die ersten Aufnahmen wurden jeweils 5 Sekunden lang belichtet, die letzte 2,5 Minuten. Sie zeigt die Lage des Tieres mit dem Schwanz nach unten. Die Scheren und ein Teil der Gliedmaßen werden nicht mit aufgenommen. Man erkennt auf dem ersten und auf dem zweiten Bild die von links unten herangeführte Spritze. Das Perikard hebt sich deutlich in der Bildmitte ab. Eine starke Ansammlung von Aktivität ist im Bereich des Magens und der Mitteldarmdrüse zu sehen. Es scheint, als werde der hintere Teil des Tieres weniger gut versorgt. Analoge Bilder, dazu mit kurzer Belichtungszeit können subjektive Fehler fördern. Das letzte Bild der Abb. 7 täuscht eine starke Aktivität im Schwanz vor; es wurde lange belichtet. An einem anderen Krebs wurde die Verteilung des Tracers ins Perikard digital ausgewertet. Aus einem Übersichtsbild wurden zehn Bereiche ausgewählt: vier längs des Carapax, drei auf dem Abdomen und drei auf der Schere. 80 Sekunden lang wurde die Aktivität über jeweils 10 Sekunden in jedem dieser ausgesuchten Bereiche summiert. Dabei wurde schon nach 10 Sekunden eine konstante Verteilung gefunden. Eine so kurze Durchmischungszeit erschien nach den vorliegenden Versuchen unwahrscheinlich. Der Verdacht, der Nullpunkt sei verschoben worden, war nicht mehr nachprüfbar. Bei einem weiteren Tier war zwischen den Aufnahmen nach 2,5, 5 und 8 Minuten kein Unterschied zu sehen.

Nach Injektion in die Schere erreichte der Tracer erst nach einer Minute das Perikard. Dann aber verteilte sich, ebenso wie beim Röntgenkontrastverfahren, die Aktivität schnell im Tier. Nach 2,5 Minuten war sie bereits überall zu sehen, nach 4 Minuten gleichmäßig verteilt. Auch hier konnte man eine Verzögerung des Zuflusses ins Pleon erkennen.

Abbildung 7:

Aufnahme mit der Szintillationskamera (Anger-Typ) nach Injektion ins Herz, bzw. Perikard.
Die ersten fünf Bilder wurden jeweils 5 Sekunden lang belichtet. Die Zahlenangabe gibt das Ende der Aufnahme an.
Die letzte Abbildung wurde von 25 Sekunden bis 3 Minuten nach Injektion aufgenommen. Sie ist zwar überbelichtet, zeigt aber um so deutlicher die Lage des Tieres unter dem runden Detektor.
In den ersten beiden Aufnahmen ist noch die von links unten herangeführte Spritze zu erkennen. (S). Das Perikard hebt sich in der Mitte ab. Nach vorn reichert sich die Aktivität vor allem um Mitteldarmdrüse und Magen an.

3.3.4 Diskussion

Nach der Abschätzung aus Röntgenkontrastbildern und der Schlagfrequenz des Herzens könnte die gesamte Hämolymphe des Flußkrebses das Herz jede Minute einmal passieren (S. 53). Das bedeutet natürlich noch nicht, daß damit die Flüssigkeit schon durchmischt ist.

Die gemessenen Durchgangszeiten liegen innerhalb von wenigen Sekunden, während nach SCHWARTZKOPFF [1953] bei Dromia vulgaris, Eripia spinifrons, Maia verrucosa und Panulirus vulgaris in die Hämolymphe injiziertes Blutlaugensalz von den Beingelenken der einen Seite zu denen der anderen eine Minute benötigt. LEONTOWITSCH [1911] sah injizierte Säugererythrocyten schon nach 20 Sekunden bei Ranatra und Palaemon in den Beinen wieder.

Tabelle 5, S. 67, zeigt die mit Hilfe verschiedener Verfahren gewonnenen Durchmischungszeiten. Röntgenkontrast- und Szintillationskamera-Aufnahmen geben Grenzwerte an. Der Wert von unter 10 Sekunden in der digitalen Szintigramm-Auswertung gibt bestimmt nicht die allgemeine Durchmischung wider. Über den längsten Weg im Kreislauf, vom Injektionsort über das Herz bis zum Beobachtungsort, verteilte sich das Pertechnetat innerhalb von 2 bis 4,5 Minuten vollständig. Direkt ins Herz injiziert, erreichte es in der Schere schon nach einer halben Minute eine konstante Konzentration. Wurde Pertechnetat in die Schere eingegeben, so wurde nach 20 Sekunden im Perikard die höchste Aktivität gemessen, die dann, ohne ein signifikantes Plateau zu erreichen, abnahm. Ins Herz injizierter Tracer verteilte sich nach den Stichproben aus den verschiedenen Beingelenken eines Tieres innerhalb von 5 bis 10 Minuten im Hämocoel. Da die Verdünnungsanalyse alle Verteilungsvorgänge erfaßt, wird diese Angabe als bevorzugt angesehen. Man kann nach Injektion an beliebiger Stelle des Kreislaufes einen Tracer nach 2 bis 5 Minuten als vollständig verteilt ansehen. Sicherlich hängt

Tabelle 4: Gemessene Durchmischungszeiten (abgerundet) in der Hämolymphe. Zeiten beim Röntgenkontrastverfahren bis zum Verschwinden von Tracer-Ablagerungen.

Methode / Tracer	Injektions-Ort	Beobachtungs-Ort	Anzahl der Versuche (Tiere)	Durchmischg.-zeit (t_d)
Verdünnungskurven				
Blue Dextran 2000	Perikard	Beingelenke	2(9,21)	$\leq$ 5 Min.
C-14-carboxy-Inulin	Perikard	Beingelenke	3	5 Min.
Tritium-methoxy-Inulin	Perikard	Beingelenke	6 2	10 Min. 20 Min.
	Perikard	Extremitäten	1(4)	$\leq$ 5 Min.
	Perikard	Schere Perikard	1	1 Min. langsame Abnahme
Durchflußkurven				
Pertechnetat (Tc-99m)	Perikard	Schere	2	0,5 Min.
	Schere	Pleon Telson Schere	4 2 6	$2 < t_d < 6$ Min.
Schnellscanner				
Technetium-99m-Protein	Schere	Herz Schere Pleon	2	$\leq$ 10 Sek. $40 < t_d < 60$ Sek. 1 t_d 2 Min.
Szintillationskamera				
(Hummer)				
Pertechnetat				
analog	Herz Schere	allgemein allgemein	2 1	3 Min. 4 Min.
digital	Herz	allgemein	1	$\leq$ 10 Sek.
Röntgenkontrast				
	Perikard	am Ort	5	Ablagerung 3,5 - 15 Min.
	Laufbeine	Thorax	3	$\leq$ 0,5, 1,5, 3,5 Min.
	Schere	Thorax	2	5 Min.
	Pleonsinus	am Ort	3 1	4,5 Min. $\leq$ 2 Min.

dieser Wert auch von der Fließgeschwindigkeit der Hämolymphe ab, die nach Seite 42 (Abb. 2) vor allem vom Bewegungszustand des Tieres bestimmt wird. Die Versuchstiere mußten für alle Gamma-Messungen, die in diesem Kapitel beschrieben wurden, festgelegt werden. Man erwartet, daß sich ein Tracer in frei beweglichen Tieren schneller verteilt. Doch gerade die Durchmischungszeiten in den unbehinderten Tieren liegen nach der Verdünnungsanalyse höher. Methodische Unterschiede erschweren einen Vergleich. Man sieht allgemein, daß die Ergebnisse stark vom Verfahren abhängen. Deshalb wurden auch mehrere Arbeitsweisen angewendet.

Bei offenen Kreisläufen der Mollusken findet man entsprechend der Vielfalt ihrer Lebensweisen recht unterschiedliche Durchmischungszeiten (MARTIN und Mitarbeiter [1953]). C-14-Inulin erreicht in Cryptochiton stelleri erst nach 1 bis 2 Stunden eine konstante Konzentration, die Schnecke Achatina fulica besitzt dagegen einen schnell umwälzenden Kreislauf. Für eine standortstreue Muschel (Margaritana) mag eine Durchmischung der Hämolymphe innerhalb von 15 Minuten ausreichen. Solche Unterschiede in der Kreislaufintensität könnten auch damit zusammenhängen, daß bei den Mollusken die Hämolymphe als Antagonist zum Hautmuskelschlauch die Körperform miterhält, und Flüssigkeitsansammlungen in den Ausstülpungen des Körpers weniger intensiv durchströmt werden. Bei einem Tier mit starrem Außenskelett, wie den Crustaceen, kann eine gleichmäßige Umwälzung besser aufrechterhalten werden.So sollten auch die Insekten einen intensiven Hämolymphumsatz besitzen. Bekannt ist darüber wenig. CRAIG und OLSON [1951] haben Käfern $NaH^{32}PO_4$-Lösung injiziert. Später wurden nach und nach Antenne, Flügel und Beine entfernt und die maximale Zählausbeute darin bestimmt. Sie fanden eine Abhängigkeit der Aktivitätszunahmen vom Injektionsort. Verallgemeinernd kann man als Durchmischungszeit ablesen: Magantia histrionica 25 Minuten, Anasa tristis 35 Minuten und Tenebrio mollitor 8 - 10 Minuten.

Sicherlich aber wird Phosphat schnell aus der Zirkulation in die Zellen aufgenommen. Von "niederen Wirbellosen" liegen kaum Angaben vor. BOOLOTIAN und CAMPELL [1964] fanden nach 15 Minuten injiziertes Fluorescein bereits überall im hämalen System des Seeigels Strongylocentrotus purpuratus.

Die Frage, ob einige Körperregionen des Flußkrebses weniger stark als die übrigen durchströmt werden, muß offen bleiben. Eine schlechtere Versorgung des Pleon (siehe S.44) ließ sich aus Gefrierschnitten (S. 33), Schnellscanner-Aufnahmen (S. 61) und Analog-Bildern mit der Szintillationskamera (S. 63) ablesen, war aber in Durchflußmessungen mit dem digitalen Ratemeter (S. 58) nicht zu bestätigen. Die digitale Auswertung der Szintigramme ist anzuzweifeln. Bevorzugt könnte die vordere Region des Cephalothorax versorgt werden. Gleich fünf Gefäßströme erreichen sie direkt vom Herzen aus. Nach Abb. 7 (S. 64) erscheint die ins Herz injizierte Aktivität dort besonders rasch. Im allgemeinen wird man aber eine schnelle und gleichmäßige Durchströmung erwarten können. Die Extremitäten enthalten um 40 % der Hämolymphe. Nach spätestens 5 Minuten war die Tracerkonzentration dort konstant. Der größte Teil der Hämolymphe sollte zu diesem Zeitpunkt schon durchmischt sein.

4. Schlußbetrachtung

Aus den vorliegenden Messungen kann man folgendes Bild ableiten: Die einheitliche Hämolymphe nimmt ein Viertel der Körpermasse ein. Etwa 40 % entfallen auf die Extremitäten. Vom Herzen wird sie unmittelbar in alle Gebiete des Körpers ohne markante Unterschiede in der Durchströmung verteilt. Eine bevorzugte Versorgung des vorderen Thorax und eine Benachteiligung des Pleon erscheinen möglich. Besondere Kreislaufwege zwischen einzelnen Organen wurden nicht beobachtet. Die Rückstrombahnen sind breit, der Fluß ist laminar. Steigt die Kreislaufintensität, so geschieht dies offenbar überall gleichzeitig. Die Zuflüsse aus den einzelnen Körperregionen werden spätestens im Herzen vermischt. Die Durchgangszeiten des Tracers in den schnellsten Stromfäden betrugen nur wenige Sekunden.Nach 2 bis 5 Minuten ist ein an beliebiger Stelle des Kreislaufes injizierter Tracer vollständig im Hämolymphraum verteilt. Auch der zeitliche Verlauf der Aktivitätszunahme an einem Beobachtungsort nach Injektion in einen anderen Bereich des Tieres spricht für eine allgemeine Durchmischung der Hämolymphe. Die Ansicht von ZUCKERKANDL [1960], der Kreislauf sei in Bereiche unterschiedlich starker Durchströmung gegliedert, wurde nicht bestätigt. Vielmehr spricht diese Arbeit neben der von BURGER und SMYTHE [1953] und der von LEONTOWITSCH 1911 für eine geordnete, intensive Zirkulation. Die gleiche Vorstellung entwickelte auch MAYNARD [1960 a].

Da diese Arbeit vor allem Methoden erproben und nur eine Übersicht des Kreislaufs beim Flußkrebs liefern sollte, bleiben viele Fragen unbeantwortet. Die Technik der Durchlaufmessung mit dem digitalen Ratemeter könnte noch wesentlich verbessert werden und als Routinemethode Anwendung finden. Daß man übliche Kreislaufgrößen, wie z. B. Blutdruck oder EKG, in dieser Arbeit vergebens sucht, ist mit der Zielsetzung, die Verteilung injizierter Substanzen kennenzulernen, begründet.

Auch die Strömung der Hämolymphe im Gewebe selbst wurde nicht beobachtet. Strömungstechnische Betrachtungen des offenen Kreislaufes wären von Interesse. Die Hämolymphräume der einzelnen Organe und ihr Umsatz können bei Stoffwechselmessungen durch Markierung mit Tritium-methoxy- oder C-14-carboxy-Inulin bestimmt werden.

5. Zusammenfassung

1. Das Hämolymphvolumen des Flußkrebses Orconectes limosus wurde mit Inulin, Tritium-methoxy-Inulin, C-14-carboxy-Inulin, Blue Dextran 2000 und J-131-Protein zu 24 - 28 % der Körpermasse bestimmt. Rhodanid, Evans Blau und ein Technetium-99m-Proteinkomplex waren hierfür ungeeignet.

2. Gefrierschnitte, Röntgenkontrastaufnahmen und die Beobachtung der Blutzellen zeigen das Bild einer geordneten Durchströmung des Hämocoels auf breiten Bahnen. Die proximal gerichtete Strömung in den Blutlakunen der Extremitäten und des Pleon ist laminar.

3. Die Verteilung des Tracers wurde mit Hilfe der Verdünnungsanalyse und des Gammastrahlers Technetium-99m (Durchflußmessungen an einer Stelle des Versuchstieres, Schnellscanner und Szintillationskamera) verfolgt. Die Durchgangszeiten vom Injektions- zum Beobachtungsort liegen in der Größenordnung weniger Sekunden und waren nicht genauer meßbar. Die Durchmischungszeit, d. h. die Zeit bis zur gleichmäßigen Verteilung einer Substanz im gesamten Hämocoel,liegt nach mehreren Methoden zwischen 2 und 5 Minuten.

4. Das Herz ist der Hauptantrieb des Kreislaufes; Körperbewegungen haben allenfalls einen störenden Einfluß. Die Hämolymphe wird vor allem im Herzen durchmischt und von dort nach allen Seiten ohne deutliche Bevorzugung bestimmter Körperregionen verteilt. Möglicherweise ist das Pleon schlechter, der Bereich von Magen und Mitteldarmdrüse besser durchströmt als der übrige Körper.

6. Literaturverzeichnis

ANDREWS, P. [1967]
Über den Blutchemismus des Flußkrebses Orconectes limosus und seine Veränderung im Laufe des Jahres.
Z. vergl. Physiol. 57, 7 - 43

ANGER, H. O. [1964]
Scintillation camera with multichannel collimators.
J. Nucl. Med. 5, 515 - 531

AWWAD, H. K., and E. J. POTCHEN [1966]
The clinical application of digital versus analog read-out systems in the interpretation of radioisotopic data.
In: CROLL, M. N., and L.W. BRADY (Edits.)
Recent Advances in Nuclear Medicine
New York: Appleton-Century-Crofts

BALSS, H. [1944]
Decapoda III. Morphologischer Teil p. 470 -517
In: SCHELLENBERG, A. und H. E. GRUNER (Edits.)
Dr. H. G. BRONNS Klassen und Ordnungen des Tierreichs.
7. Buch 3./4. Lief.
Leipzig: Akademische Verlagsgesellschaft Geest und Portig

BAUMANN, H. [1917]
Das Cor frontale bei den dekapoden Crustaceen.
Zool. Anz. 49, 137 - 144

BAUMANN, H. [1921]
Das Gefäßsystem von Astacus fluviatilis (Potamobius astacus L.)
Z. wiss. Zool. 118, 246 - 312

BAYER, R. [1968]
Untersuchungen am Kreislaufsystem der Wanderheuschrecke (Locusta migratoria migratorioides R. et F., Orthopteroidea) mit besonderer Berücksichtigung des Blutdruckes.
Z. vergl. Physiol. 58, 76 - 135

BAYLY, R. B. [1966]
Labelled compounds in medical diagnosis.
Nucleonics 24, 46 - 53

BELITZ, H. J. [1960]
Die Anwendung statistischer Methoden in der Biologie.
Der Mathematikunterricht 60, 83 - 103

BOOLOOTIAN, R. A., and J. L. CAMPBELL [1964]
A primitive heart in the echinoid Strongylocentrotus purpuratus.
Science, N. Y. 145, 173 - 175

BRODY, M. S., and E. B. PERKINS [1930]
The arterial system of Palaemonetes.
J. Morph. Physiol. 50, 127 - 141

BRYDEN, M. M., and G. H. K. LIM [1969]
Blood parameters of the southern elephant seal (Mirouga leonina, Linn.) in relation to diving.
Comp. Biochem. Physiol. 28, 139 - 148

BURGER, J. W., and C. M. SMYTHE [1953]
The general form of circulation in the lobster, Homarus.
J. cell. comp. Physiol. 42, 369 - 383

CHIEN, S., and M. I. GREGERSEN [1962]
Determination of body fluid volumes. p. 1 - 105
In: NASTUK, W. L. (Edit.)
Physical Techniques in Biological Research.
Vol. IV: Special Methods.
New York, London: Academic Press

COON, B. F. [1944]
Effects of paralytic insecticides on heart pulsations and blood circulation in the american cockroach as determined with fluorescein indicator.
J. econ. Ent. 37, 785 - 789

CRAIG, R., and N. A. OLSON [1951]
Rate of circulation of the body fluid in adult Tenebrio molitor LINNAEUS, Anasa tristis (DE GEER), and Murgantia histrionica (HAHN).
Science, N. Y. 113, 648 - 650

CRANDALL, L. A., and M. X. ANDERSON [1934]
Estimation of the state of hydration of the body by the amount of water available for the solution of thiocyanate.
Am. J. dig. Dis. Nutr. 1, 126 - 131

CROOKE, A. C., and C. J. O. MORRIS [1942]
The determination of plasma volume by the Evans blue method.
J. Physiol., Lond. 101, 217 - 223

CROWLEY, G. J. [1963]
Studies in the arthropod serology.
Part 1: Changes in hemolymph composition as related to the ecdysal cycle.
Wasmann J. Biology 21 (2), 177 - 191

CRUICKSHANK, E. W. H., and I. C. WHITFIELD [1944]
The rate of mixing and disappearence of T 1824 (Evans blue) injected into circulation.
J. Physiol., Lond. 103, P 19 - P 20

DAWSON, A. B., H. M. EVANS, and G. H. WHIPPLE [1920]
Blood volume studies.
III. Behavior of large series of dyes introduced into the circulating blood.
Am. J. Physiol. 51, 232 - 256

DEAN, J. M., and F. J. VERNBERG [1966]
Hypothermia and blood of crabs.
Comp. Biochem. Physiol. 17, 19 - 22

DOERFFEL, K. [1962]
Beurteilung von Analysenverfahren und -ergebnissen.
Z. analyt. Chem. 185, 1 - 98

DERRICKSON, M. B., and W. R. AMBERSON [1934]
Determination of blood volume in the lower vertebrates by the direct method.
Biol. Bull. mar. biol. Lab.,Woods Hole 67, 329

DEYRUP, I. J. [1964]
Water balance and kidney. p. 251 - 328
In:MOORE, J. A. (Edit.)
Physiology of Amphibia.
New York, London: Academic Press

DUBUISSON, M. [1928]
Recherches sur la circulation du sang chez les crustacés.
1 er note: Amphipodes. Circulation chez les Gammariens; synchronisme des mouvements respiratoires et de pulsations cardiaques.
Archs Zool. exp. gén. 67, 93 - 104

EDWARD, G. A., and L. IRVING [1942 a]
The influence of season and temperature upon the oxygen consumption of the sand crab, Emerita talpoidea SAY.
J. cell. comp. Physiol. 21, 169 - 182

EDWARD, G. A., and L. IRVING [1942 b]
The influence of season and temperature upon oxygen consumption of the beach flea, Talorchestia megalophthalma.
J. cell. comp. Physiol. 21, 183 - 189

EHRHARDT, P. [1962]
Untersuchungen zur Stoffwechselphysiologie von Megoura viciae BUCKT., einer phloemsaugenden Aphide.
Z. vergl. Physiol. 46, 169 - 211

ELSON, L. A., and F. L. WARREN [1944]
The metabolism of azo compounds. 1.Azobenzene.
Biochem. J. 38, 217 - 220

FÅHRAEUS, R. [1931]
Der Strömungswiderstand des Blutes in verschiedenen Teilen des Gefäßsystems.
Uppsala Univ. Årssk. 1932, Programm 7

FISHER, R. A. [1935]
The effect of acetic acid vapor treatment on blood cell counts in the cockroach, Blatta orientalis L.
Ann. ent. Soc. Am. 28, 146 - 153

FLEMISTER, L. J. [1958]
Salt and water anatomy,constancy and regulation in related crabs from marine and terrestrial habitats.
Biol. Bull. mar. biol. Lab., Woods Hole 115, 180 - 200

GEORGE, C. J., N. REUBEN, and P. T. MUTHE [1954]
The blood-vascular system of Panulirus polyphagus (Herbst).
J. Animal Morphol. Physiol. 1, 17 - 25

GERSCHLER, W. [1910]
Über ein Extremitätenorgan zur Regelung der Blutcirculation bei Leptodora kindtii (Focke).
Zool. Anz. 36, 329 - 336

GIESBRECHT, W. [1921]
II. Klasse: Crustacea
VII. Blutgefäßsystem und Leibeshöhle.
In:LANG, A. (Edit.)
Handbuch der Morphologie der wirbellosen Tiere.
Jena: Gustav Fischer

GLASSER, O. [1951]
Medical Physics. Vol. 1
Chicago: The Year Book Publ.

GRAUWILER, J. [1965]
Herz und Kreislauf der Säugetiere.
Experientia, Supplement 10

HANDELSMANN, M. B., and J. DRABKIN [1954]
Use of anthrone reagent to estimate inulin in the presence of glucose.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 86, 356

HARREVELD, A. van [1936]
A phsiological solution for freshwater Crustaceans.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 34, 428 - 432

HARRIS, C. C. [1964]
Certain fundamental physical considerations in scanning.
In: QUINN, J. L. (Edit.)
Scintillation Scanning in Clinical Medicine.
Philadelphia, London: Saunders

HEROUARD, E. [1905]
La circulation chez les Daphnies.
Mem. Soc. Zool. France 18, 214 - 232

HESSE, R. [1921]
Das Herzgewicht der Wirbeltiere.
Zool. Jb., 3. Abtl. Allg. Zool. u. Physiol. 28, 243 - 364

HOFFMANN, P. [1913]
Über den Herzschlag des Flußkrebses mit besonderer Berücksichtigung des systolischen Stillstandes.
Z. Biol. 59, 297 - 313

KAZEM, I. und W. MAIER - BORST [1966]
Zur Herstellung von 99m Tc-markiertem Serumalbumin.
Nucl.-Med. 5, 285 - 289

KERLEY, D. E., and A. W. PRITCHARD [1967]
Osmotic regulation in the crayfish, Pacifastacus leniusculus, stepwise acclimated to dilutions of sea water.
Comp. Biochem. Physiol. 20, 101 - 113

KÖNIGER, M. und A. SÜSS [1968]
Anwendung von Gelierungsmitteln bei der Messung von mit C 14 markierten Substanzen.
Kerntechnik 11, 274 - 278

KIRSCHNER, L. B., and S. WAGNER [1965]
The site and permeability of the filtration locus in the crayfish antennal gland.
J. exp. Biol. 43, 385 - 395

LANG, K. [1933]
Rhodanbildung im Tierkörper.
Biochem. Z. 259, 243 - 256

LEE, R. M. [1961]
The variation of blood volume with age in the desert locust (Schistocerca gregaria FORSK.)
J. Insect Physiol. 6, 50 - 51

LEEVENBOOK, L. [1958]
Intracellular water of larval tissues of the southern army worm as determined by the use of 14 C-carboxy-Inulin.
J. cell. comp. Physiol. 52, 329 - 339

LEONTOWITSCH, A. [1911]
Über eine neue physiologische Untersuchungsmethode zum Studium der Blutzirkulation der Wirbellosen und einige Resultate derselben bei Ranatra und Palaemon squilla.
Z. allg. Physiol. 12, 337 - 351

LE VEEN, H. H., and W. H. FISHMANN [1947]
Combination of Evans blue with plasma protein: its significance in capillary permeability studies, blood dye disappearence curves, and its use as protein tag.
Am. J. Physiol. 151, 26 - 33

LORENZ, W. J. [1967]
Gammakameras für die klinische Diagnostik.
Kerntechnik 9, 542 - 545

LORENZ, W. J. und K. E. SCHEER [1967]
Neuere Anwendungen kernphysikalischer Meßmethoden in der Medizin.
Fortsch. Geb. RöntgStrahl. 106, 198 - 205

LOWRY, O. H., N.J. ROSEBROUGH, A.L. FARR, and R.J. RANDALL [1951]
Protein measurement with the Folin phenol reagent.
J. biol. Chem. 193, 265 - 275

MALUF, N. S. R. [1941]
Secretion of inulin, xylose and dyes and its bearing on the manner of urine formation by the kidney of the crayfish.
Biol. Bull. mar. biol. Lab., Woods Hole 81, 235 - 260

MANGOLD, E [1926]
Weitere Studien zur physiologie des Krebsherzens.
III. Der von der R-G-T-Regel abweichende Einfluß der Temperatur auf die Herzfrequenz mariner Dekapoden.
Z. vergl. Physiol. 3, 522 - 527

MARTIN, A. W. [1947]
The blood volume of some elasmobranches.
Fedn. Proc. 6, 1964

MARTIN, A. W., F. M. HARRISON, M. J. HUSTON, and D. M. STEWART
The blood volumes of some representative molluscs. [1958]
J. exp. Biol. 35, 260 - 279

MARSCHALL, K. J. [1966]
Bau und Funktion der Blutzellen des Mehlkäfers Tenebrio molitor L.
Z. Morph. Ökol. Tiere 58, 182 - 246

MAYNARD, D. M. [1960 a]
Circulation and heart function.
In: WATERMAN, T. H. (Edit.)
The Physiology of Crustacea. Vol. 1
New York, London: Academic Press

MAYNARD, D. M. [1960 b]
Heart rate and body size in the spiny lobster.
Physiol. Zoöl. 33, 241 - 251

MICHAEL, R. G., and M. R. CHANDRAN [1967]
On the biochemical composition of the conchostracan Caenestheriella annandalei DADAY.
Biol. Zbl. 86, 495 - 459

MILLER, A. T. jr. [1947]
A re-evalution of the T-1824 mixing curve.
Am. J. Physiol. 151, 234 - 238

MORRISON, P. R., and J. C. MORRISON [1952]
Bleeding and coagulation in some Bermudan crustacea.
Biol. Bull. mar. biol. Lab., Woods Hole 103, 395 - 406

NEWELL, R. R. [1951]
In: GLASSER 1, 1269 - 1271

OLDENDORF, W. H. [1966]
Cerebral blood flow measurements.
In: CROLL, M. H., and L. W. BRADY
Recent Advances in Nuclear Medicine.
New York: Appleton-Century-Crofts

PEYROT, A., F. F. PENNISI und A. M. BICIOTTI [1965]
Mesure du volume total et du porcentage du sang ches le triton crete (Tritutus cristatus carnifex LAUR.) dosage par dulution radioisotopique.
Z. vergl. Physiol. 50, 88 - 90

PFANZAGL, J. [1966]
Allgemeine Methodenlehre der Statistik.
Berlin: de Gruyter

PHELPS, C. F. [1965]
The physical properties of inulin solutions.
Biochem. J. 95, 41 - 47

POPPE, H. [1966]
Technik der Röntgendiagnostik.
Stuttgart: Georg Thieme

POTONIE, H. [1926]
Über den Temperatureinfluß auf die Herztätigkeit des Flußkrebses.
Z. vergl. Physiol. 3, 528 - 546

PROSSER, C. L. [1943]
An analysis of the action of salts upon abdominal ganglia of crayfish.
J. cell. comp. Physiol. 22, 131 - 145

PROSSER, C. L., and S. J. F. WEINSTEIN [1949]
Comparison of blood volumes with open und with closed circulatory systems.
Physiol. Zoöl. 22, 113 - 124

RAGNEKAR, P. V. [1954]
A comparative study of the blood volume in the crustaceans Scylla serrata, Panulisus polyphagus, and Parathelphusa guerini.
J. Anim. Morph. Physiol. 1, 62 - 64

REEVE, E. B. [1948]
Methods of estimating plasma and total red cell volume.
Nutr. Abstr. Rev. 17, 811 - 834

REICHHOLD, P. und P. WOLF [1967]
Produktion von Radionukliden am Hahn-Meitner-Institut, Sektor Kernchemie
HMI - B 52

RIEGEL, J. A., and R. A. PARKER [1960]
A comparative study of crayfish blood volumes.
Comp. Biochem. Physiol. 1, 302 - 304

RIEGEL, J. A. and L. B. KIRSCHNER [1960]
The excretion of inulin and glucose by the crayfish antennal gland.
Biol. Bull. mar. biol. Lab., Woods Hole 118, 296 - 307

RIGGS, D. S. [1963]
The Mathematical Approach to Physiological Problems.
Baltimore: Williams and Wilkins

SAALFELD, E. von [1936]
Untersuchungen über den Blutkreislauf bei Leptodora hyalina.
Z. vergl. Physiol. 24, 58 - 70

SCHLUNGBAUM, W. [1967]
Medizinische Strahlenkunde. 3. ed.
Berlin: de Gruyter

SCHWARTZKOPFF, J. [1953 a]
Die Kreislaufzeiten einiger Crustaceen.
Naturwissenschaften 40, 585 - 586

SCHWARTZKOPFF, J. [1953 b]
Das Herzminutenvolumen von Helix pomatia L.
Experientia 9, 428 - 429

SCHWARTZKOPFF, J.[1954]
Über die Leistung des isolierten Herzens der Weinbergschnecke (Helix pomatia L.) im künstlichen Kreislauf.
Z. vergl. Physiol. 36, 543 - 594

SCHWARTZKOPFF, J.[1955]
Vergleichende Untersuchungen der Herzfrequenz bei Krebsen.
Biol. Zbl. 74, 480 - 497

SCHWARTZKOPFF, W.[1963]
Zur Bindung von Azofarbstoffen (Evans Blau, Trypanblau, Trypanrot) an Plasmaalbumin und ihre Verweildauer im Serum.
In:PETERS, H. (Edit.)
Proc. 10 th Colloq. Protides in the Biological Fluids, Bruges[1962]

SCHWERDTEL, E.[1966]
Neue Entwicklungen bei der Flüssig-Szintillator-Technik.
Kerntechnik 8, 517 - 520

SKRAMLIK, E. v.[1929]
Untersuchungen über das Kreislaufsystem bei den Weichtieren.
Z. vergl. Physiol. 10, 1 - 19

STANG, L. G. jr., and P. RICHARDS[1964]
Tailoring the isotope to the need.
Nucleonics 22 (No. 1), 46 - 49

STOCKINGER, L.[1964]
Vitalfärbung und Vitalfluorochromierung tierischer Zellen.
Protoplasmatologia 2, D 1
Wien: Springer

TAUBER, O. E., and J. F. YEAGER[1935]
On the total hemolymph (Blood) cell counts of insects.
Ann. ent. Soc. Am. 28, 229 - 240

TURNER und HERMANN[1931]
Zit. nach BRYDEN und LIM[1969]

URICH, K.[1966]
Stoff- und Energiewechsel
In:HERTER, K.,URICH, K.
vergleichende Physiologie der Tiere, Bd. 1
Berlin: de Gruyter

WAGNER, H. N. jr.[1966]
Nuclear medicine: present and future.
Radiology 86, 601 - 614

WARNATSCH, D.[1968]
Zum Kupferhaushalt des Flußkrebses Orconectes limosus.
Diss. Berlin

WASER, P. G. [1961]
Kreislaufdiagnostik mit Hilfe radioaktiver Isotope.
In: SCHWIEGK, H. und F. TURBA (Edits.)
Künstliche radioaktive Isotope in Physiologie, Diagnostik und Therapie. 2. ed. Bd. 2
Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer
p. 511 (erste Methode für Protein-Jod-Bindung)

WEBER, E. [1967]
Grundriß der biologischen Statistik. 6. ed.
Stuttgart: Fischer

WEBER, H. [1954]
Grundriß der Insektenkunde. 3. ed.
Stuttgart: Fischer

WETZEL, W. [1965]
Elementare Statistische Tabellen.
Kiel: Selbstverlag

WHITMORE, R. L. [1967]
The flow behaviour of blood in the circulation.
Nature, Lond. 215, 123 - 126

WIGGLESWORTH, V. B. [1965]
The Principles of Insect Physiology. 6. ed.
London: Methuen, New York: Dutton

WOODBURY, D. M. [1966]
Physiology of Body Fluid. p.871 - 898
In: RUCH, T. C., and H. D. PATTON
Physiology and Biophysics. 19. ed.
Philadelphia, London: Saunders

YANNI, M. [1961]
Lipids an water content in the tissues of Clarius lazera.
Z. vergl. Physiol. 45, 50 - 55

YEAGER, J. F., and O. E. TAUBER [1932]
Determination of total blood volume in the cockroach, P. fuliginosa, with special reference to the method.
Ann. ent. Soc. Am. 25, 315 - 327

YOUNG, M. K., and L. G. RAISZ [1952]
Zit. n.: Chien, S., and M. I. GREGERSEN [1962]

ZUCKERKANDL, E. [1960]
Y a-t-il plus d'un "espace extracellulaire" chez les Crustacés Décapodes ?
Cah. Biol. mar. 1, 25 - 35

Lebenslauf

Am 7. November 1941 wurde ich als Sohn des Musikmeisters Lothar Förstel und seiner Ehefrau Rosemarie Förstel, geb. Sauer, in Schweidnitz in Schlesien geboren. 1945 siedelten wir nach Saalfeld / Thüringen über, wo ich 1948 eingeschult und 1956 in die dortige Oberschule übernommen wurde. Seit 1958 ist West-Berlin mein neuer Wohnsitz. Dort habe ich von Ostern 1958 bis September 1961 die Eckener-Schule Berlin-Mariendorf bis zur Reifeprüfung besucht.

Seit dem Wintersemester 1961/61 studiere ich an der Freien Universität Berlin Zoologie. Nach dem Vordiplom (Wintersemester 1964/65) begann ich im September 1965 unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. Urich meine Dissertationsarbeit am II. Zoologischen Institut, ging für besondere Untersuchungen an das Hahn-Meitner-Institut für Kernforschung Berlin als Gast und folgte der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. Wagner als wissenschaftliche Hilfskraft an die Kernforschungsanlage Jülich, meine derzeitige Arbeitsstelle.

Meine akademischen Lehrer waren im Fach Zoologie die Herren Professoren Günter, Kemper, Kümmel, Peus, Urich und Ulrich. Botanik hörte ich bei den Professoren Thielke, Eckardt und Reinert, Genetik und allgemeine Biologie bei Herren Professor Luers, Physik bei Herren Professor Lassen und Chemie bei den Herren Professoren Broser, Jahr und Riemschneider.